Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik im
Klinikum Steglitz der
Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. R. Häring
Abteilung für Allgemein-, Gefäß- und Thoraxchirurgie

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG ÜBER DIE ZUSÄTZLICHE NAHTSICHERUNG VON KOLONANASTOMOSEN DURCH FIBRINKLEBER UND KOLLAGENVLIES

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Thomas Martin Bodemann
aus Stuttgart

1985

THE NEWBERRY LIBRARY

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik im
Klinikum Steglitz der
Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. R. Häring
Abteilung für Allgemein-, Gefäß- und Thoraxchirurgie

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG ÜBER DIE ZUSÄTZLICHE NAHTSICHERUNG VON KOLONANASTOMOSEN DURCH FIBRINKLEBER UND KOLLAGENVLIES

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Thomas Martin Bodemann
aus Stuttgart

Referent: Prof. Dr. med. A. Anders

Korreferent: Priv. Doz. Dr. med. H. Gögler

Gedruckt mit Genehmigung der
medizinischen Fachbereiche der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 12. März 1985

Meinen Eltern gewidmet

Inhalt

		Seite
1.	Einleitung	7
1.1.	Anastomosenheilung	9
1.2.	Möglichkeiten der zusätzlichen Sicherung von Dickdarm-Anastomosen	10
1.2.1.	Synthetische Kleber	10
1.2.2.	Fibrinkleber	11
1.2.3.	Kollagenvlies	12
1.2.3.1.	Kollagenvlies und Kollagenase	13
1.2.3.2.	Kollagen und Hydroxyprolin	14
2.	Fragestellung	15
3.	Material und Methodik	17
3.1.	Versuchsaufbau	17
3.2.	Operationstechnik	19
3.2.1.	Versuchstiere	19
3.2.2.	Nahtmaterial	19
3.2.3.	Desinfektion	19
3.2.4.	Narkosemittel	20
3.2.5.	Vorbereitung, Anästhesie, operatives Procedere sowie Nahttechnik	20
3.2.6.	Fibrinklebung	22
3.2.6.1.	Fibrinkleber	22
3.2.6.1.1.	Nicht-radioaktiver Fibrinkleber	22
3.2.6.1.2.	Radioaktiv-^{125}Jod-markierter Fibrinkleber	23
3.2.6.2.	Durchführung der Fibrinklebung	23
3.2.7.	Kollagenvlies-Ummantelung	25
3.2.7.1.	Kollagenvlies	25
3.2.7.2.	Durchführung der Kollagenvlies-Ummantelung	25
3.2.8.	Klinische Nachkontrolle und Explantation	28

		Seite
3.3.	Die experimentellen Parameter und ihre technische Durchführung	28
3.3.1.	Berstungsdruckmessung	28
3.3.1.1.	Durchführung der Berstungsdruckmessung	29
3.3.2.	Hydroxyprolinbestimmung	32
3.3.2.1.	Geräte, Reagenzien und Puffer	32
3.3.2.2.	Durchführung der Hydroxyprolinbestimmung	33
3.3.3.	^{125}Jod-Fibrinogen-Kinetik - Messung	34
3.3.3.1.	Material und Geräte	34
3.3.3.2.	Durchführung der Kinetik - Messung	35
3.3.4.	Mikroangiographie	37
3.3.4.1.	Material und Geräte	37
3.3.4.2.	Durchführung der Mikroangiographie	38
3.3.5.	Histologie	42
3.4.	Statistische Methoden der Auswertung	44
4.	Ergebnisse der Experimente	46
4.1.	Operation	46
4.2.	Berstungsdruckmessung	49
4.2.1.	Alleinige Naht (Gruppe I)	49
4.2.2.	Naht mit Fibrinklebung (Gruppe II)	50
4.2.3.	Kollagenvlies-Ummantelung ohne bzw. mit zusätzlicher Fibrinklebung (Gruppen III und IV)	50
4.2.4.	Vergleich der Gruppen I bis IV	51
4.3.	Hydroxyprolinbestimmung	53
4.3.1.	Alleinige Naht (Gruppe I)	53
4.3.2.	Naht mit Fibrinklebung (Gruppe II)	54
4.3.3.	Kollagenvlies-Ummantelung ohne bzw. mit Fibrinklebung (Gruppen III und IV)	55
4.3.4.	Vergleich der Gruppen I bis IV	57
4.4.	^{125}Jod-Fibrinogen-Kinetik - Messung	57
4.4.1.	Radioaktiv-^{125}Jod-markierte Fibrinklebung (Gruppe II)	59

Seite

4.4.2.	Kollagenvlies-Ummantelung mit radioaktiv-^{125}Jod-markierter Fibrinklebung (Gruppe IV)	59
4.4.3.	Vergleich der Gruppen II und IV	60
4.5.	Mikroangiographie	62
4.5.1.	Alleinige Naht und zusätzliche Fibrinklebung (Gruppen I und II)	62
4.5.2.	Kollagenvlies-Ummantelung ohne bzw. mit Fibrinklebung (Gruppen III und IV)	63
4.5.3.	Vergleich der Behandlungsgruppen I bis IV	63
4.6.	Histologie	65
4.6.1.	Alleinige Naht und zusätzliche Fibrinklebung (Gruppen I und II)	65
4.6.2.	Kollagenvlies-Ummantelung ohne bzw. mit Fibrinklebung (Gruppen III und IV)	66
4.6.3.	Vergleich der Gruppen I bis IV	67
5.	Diskussion	69
6.	Zusammenfassung	72
7.	Literaturverzeichnis	74
	Danksagung	86
	Lebenslauf	87

1. EINLEITUNG

Die Anastomoseninsuffizienz ist trotz optimierter Nahttechnik und Operationsvorbereitung nach wie vor ein Problem in der Allgemeinchirurgie. Besonders Anastomosen im Kolonbereich weisen eine hohe Insuffizienzrate auf, wobei Sammelstatistiken zwischen 4,5 % und 16 %, im Rektumbereich zwischen 30 % und sogar 69 % (22, 26, 65) nennen (25, 40, 61, 65).

Es ist davon auszugehen, daß eine größere Zahl von Insuffizienzen klinisch stumm verläuft (7). Prospektive Studien, die eine postoperative Kontrolle in Form einer röntgenologischen Peritrastdarstellung durchgeführt haben, berichten von 18 % röntgenologisch nachgewiesenen Nahtdehiszenzen, denen 7 % mit klinischer Symptomatik gegenüberstanden (75). Ausgeprägte Anastomoseninsuffizienzen im Kolonbereich können eine Letalität von ca. 33 % (66) bis 37,8 % (62) aufweisen, wenn es zur Ausbildung einer Peritonitis kommt.

Hinsichtlich der Ätiologie einer Insuffizienz wird zwischen einer Früh- und einer Spätinsuffizienz differenziert. Die Frühinsuffizienz ist in erster Linie technisch bedingt. Daneben wird auch die Kollagenolyse bei verstärkter Kollagenaseaktivität für die geringe Anastomosenstabilität - insbesondere am dritten postoperativen Tag - verantwortlich gemacht: Die Stärke einer Anastomose hängt von der Menge reifen Kollagens in der Submucosa ab (21).

Offenbar spielen dabei auch Infektionen eine Rolle. Trotz ausgiebiger antibiotischer Abdeckung und sonstiger präoperativer Darmreinigung muß damit gerechnet werden, daß die Anwesenheit von Bakterien zu lokalen Abszeßbildungen führen kann und eine zusätzliche Stimulation der Kollagenase mit vermehrter Kollagenolyse und damit wahrscheinlicher werdender Nahtinsuffizienz zur Folge hat (32).

Die Fibrinolyse scheint weniger als die Kollagenolyse an der Insuffizienzbildung beteiligt zu sein: Tierexperimentell konnte nachgewiesen werden, daß postoperativ eine spontane Hemmung der Fibrinolyse eintritt, wodurch das Gleichgewicht zwischen Fibrinbildung und Fibrinolyse zugunsten der Reparation verschoben ist.

Die Applikation des Proteinasehemmers Aprotinin als Antifibrinolytikum konnte dementsprechend keine Besserung der mechanischen Festigkeit (gemessen am Berstungsdruck) erbringen (8).

Der Spätinsuffizienz liegt eine Durchblutungsstörung bei zu weitreichender Skelettierung der versorgenden Gefäße und nicht spannungsfreier Naht zugrunde.

Folgende Faktoren werden bei der Anastomoseninsuffizienz vermehrt angetroffen (5, 7, 66):

a) Operationsdauer von mehr als 3 Stunden
b) Blutverlust von mehr als 1 l
c) Schlechter Ernährungszustand
d) Notfallresektion
e) Bestrahlung des Darms
f) Konsumierende Erkrankungen
g) Lokalisation (Rektum-nahe Anastomosen sind eher insuffizienzgefährdet)
h) männliche Patienten

Peritoneale Infektion, Bestrahlungstherapie und ungenügende Operationsradikalität bei Dickdarm-Malignomen sowie Kombination o. a. Faktoren werden als kausale Faktoren bezeichnet.

Das Ziel der Kolonchirurgie, allein mittels einer qualifizierten Nahttechnik Darmwandblutungen zu verhindern und

insbesondere wasser-, luft- und bakteriendichte Abschlüsse gegenüber der übrigen Bauchhöhle zu erreichen, muß in Anbetracht der genannten Insuffizienzraten als nicht erreicht betrachtet werden. Aus dieser Erkenntnis heraus haben daher Generationen von Chirurgen sich zugleich bemüht, die Ursachen der Anastomosen-Insuffizienz zu erforschen, um zusätzliche Methoden zu ihrer Sicherung zu finden und zu erproben.

1.1. Anastomosenheilung

In der vorliegenden Untersuchung wurden verschiedene experimentelle Parameter der Heilung von Dickdarmanastomosen bei verschiedenen Operationstechniken erhoben. Der natürliche, phasenhafte Heilungsvorgang einer Kolon-Anastomose kann folgendermaßen skizziert werden (vgl. 6, 43, 58, 38, 54):

1. Phase: (bis zum 30. p.o. Tag)

Proteolytischer Abbau des Kollagens durch die gewebsständige Kollagenase, Zeichen der Entzündung, Ödem; die Anastomose ist avaskulär (43) und erhält fast ausschließlich durch die Nähte selbst ihre mechanische Festigkeit. Am 3. p.o. Tag Einbruch der Berstungsdruckkurve als Zeichen der Instabilität und damit Phase der geringsten Festigkeit.

2. Phase: (4. bis 14. Tag)

Proliferation von Fibroblasten und Synthese neuen Kollagens; ab 7. p.o. Tag Beginn der Vaskularisierung (43); ab 9. p.o. Tag deutliche Festigkeit mit Bildung einer Narbe.

3. Phase: (14. bis 180. Tag)

Immer noch erhöhter Umsatz des Kollagens als Zeichen weiter bestehender Reparation ohne weiteren Zugewinn an Festig-

keit der Anastomose, so daß von einer Wiederherstellung der Schleimhautkontinuität ausgegangen werden kann (43).

Klinik:

Neben den Fisteln und Abszeßbildungen im Anastomosenbereich ist eine der gefürchtetsten Komplikationen der Nahtdehiszenz die postoperative Peritonitis mit konsekutivem septisch-toxischem Schock (12, 67). Rund ein Drittel der Relaparotomien und zwei Drittel der postoperativen Letalität wiederum gehen zu Lasten der Peritonitis.

1.2. Möglichkeiten der zusätzlichen Sicherung von Dickdarm-Anastomosen

Tierexperimentell haben sich ausschließlich geklebte - also nicht genähte - Anastomosen nicht bewährt (5, 27, 28, 29, 43). Es wurden daher verschiedenste Versuche unternommen, die Anastomosennaht durch zusätzliche Klebungen mittels Zyanoacrylaten, Fibrin bzw. Fibrin kombiniert mit einem Kollagenvlies zu sichern.

1.2.1. Synthetische Kleber

Die von HÄRING und Mitarbeitern (1966) tierexperimentell durchgeführten Nahtklebungen durch Zyanoacrylate führten teilweise zu einer größeren Anzahl von Anastomoseninsuffizienzen bei heftigen entzündlichen Reaktionen im ösophagogastralen Bereich.

Einige Autoren berichten über eine Senkung der Insuffizienzraten bei Darmanastomosen; diese waren jedoch häufig mit durch Verwachsungen bedingtem Ileus vergesellschaftet (48).

Auch der Nutzen anderer synthetischer Gewebekleber wie Gelatin-Resorcin-Formaldehyd ist wegen der schlechten Gewebeverträglichkeit gering (71).

1.2.2. Fibrinkleber

Seit MATRAS und seine Arbeitsgruppe 1972 ihre vergleichende experimentelle Studie mit Fibrinkleber am N. Ischiadicus des Kaninchens mitteilten, hat die Fibrinklebung in sehr vielen tierexperimentellen (14, 37, 61, 68) und klinischen (69, 70, 60, 62, 63, 56) Untersuchungen ihren Gegenstand gefunden, wobei überwiegend positive Erfahrungen gesammelt wurden. Besonnen hat man sich dabei einer Methode, die bereits im Prinzip von den Arbeitsgruppen um YOUNG & MEDAWAR (1940) und CONKRITE (1944) entwickelt wurden (69, 79). Das Fibrin, welches im Gegensatz zu den Acrylklebern eine physiologische Substanz darstellt und keine Barriere gegen das Einsprossen des reparativen Granulationsgewebes darstellt (39), hat eine zentrale Stellung in der Blutstillung und Wundheilung zugleich. Dies war schon von BERGEL, GREY und HARVEY mit der Konsequenz der Applikation von Fibrin-Puder, -Tympons und -Plättchen bei Blutungen an parenchymatösen Organen erkannt worden (69).

Für die weitere Entwicklung waren die Entdeckung des fibrinstabilisierenden Faktors XIII, die Herstellung eines hochkonzentrierten und reinen Fibrinogens sowie die der Proteinasen-Inhibitoren Aprotinin (Trasylol) und -Aminocapronsäuren als Antifibrinolytika entscheidend. Das physiologische Prinzip der Fibrinklebung läßt sich mit HÖLLERL (1981) folgendermaßen beschreiben: "Bei der Gewebeklebung mit Fibrinogen, der Hauptkomponente der Plasmafraktion, wird die sogenannte zweite Phase der Blutgerinnung, nämlich die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin, imitiert. Durch die Einwirkung von Thrombin (-Lösung und in Anwesenheit von Fak-

tor XIII und Ca^{++}, Anmerkung des Verfassers) wird Fibrinogen zu monomerem Fibrin, dieses wird durch Polymerisation zu instabilem, gallertigem Fibrinpolymer, das eine enge Verbindung mit seinem Trägergewebe eingeht."

Gewebeklebung sowie Blutstillung mit Fibrinogenkonzentraten und Kollagenschwämmen:

1.0. Indikationen für die Fibrinklebung

1.1. Anastomosierung von Nerven
1.2. Replantation autologer Vollhaut
1.3. Fixierung von Knorpel- und Knochenstücken
1.4. Versiegelung von Darmanastomosen

2.0. Indikationen für die Kombination von Fibrinklebung mit Kollagenschwämmen

2.1. Profuse Blutungen in der Gefäßchirurgie
2.2. Tonsillektomie bei blutungsgefährdeten Patienten
2.3. Leber- und Milzrupturen
2.4. Spongiosaersatz und bei Knochendefekten
2.5. Polresektion der Niere

Tabelle 1 (71)

1.2.3. Kollagenvlies

Die Versuche mit resorbierbaren Kollagenvliesen (im Zusammenhang mit dem Fibrinkleber-System) werden seit der Renaissance des Fibrinklebers ebenfalls immer häufiger berichtet (68, 70, 71, 12). Dabei nutzt man zum einen die hämostyptische Wirkung des Kollagens über seine Fähigkeit

zur Auslösung der Thrombozyten-Aggregation (Stemberger, 71, 1978), zum anderen die starke Affinität des Fibrins zum Kollagen, wodurch sich das Kollagenvlies optimal als Träger für das Fibrinkleber-System darstellt.

Das Kollagenvlies hat neben anderen Anwendungsbereichen (s. Tab.) insbesondere auch im gastrointestinalen Bereich bei Parenchymblutungen von Leber und Milz (39) und bei Abdekkung von Anastomosen zunehmende Verwendung gefunden. Klinische Erfahrungen lassen jedoch vermuten, daß sich die chirurgisch verwendeten Kollagen-Schwämme zumindest im Abdominalbereich schnell auflösen. Dem entspricht experimentell die geringe Reißfestigkeit insbesondere von feuchten chirurgischen Kollagen-Schwämmen (71). Die Gewebeverträglichkeit der Kollagen-Schwämme wird unterschiedlich beurteilt: Im Gegensatz zu SCHEELE und Mitarbeiter (62) fand die Arbeitsgruppe um HÖLLERL (39) schon beim nicht aldehydvernetzten Kollagen-Schwamm im histologischen Präparat Fremdkörperriesenzellen. Die Kollagenvliese wurden bisher auch unter der Vorstellung verwendet, daß Kollagen die Kapillareinsprossung und sukzessiv die Fibrillogenese fördert. Zudem besteht eine große Fähigkeit, Exsudate aufzusaugen (17).

1.2.3.1. Kollagenvlies und Kollagenase

Der Auflage bzw. Ummantelung einer Kolon-Anastomose kommt unter dem Aspekt der eingangs beschriebenen erhöhten Aktivität der Kollagenase eine weitere besondere Bedeutung zu: Grundsätzlich bieten sich zwei Möglichkeiten an, der Lyse des Kollagens, von dessen Quantität wie Qualität die Festigkeit der Anastomose offensichtlich abhängt, zu begegnen (3):

a) Hemmung der Kollagenase durch Hemmung der sie aktivierenden Proteasen wie Trypsin und Kallikrein durch z. B.

Aprotinin, EDTA und EGLIN B, was experimentell dosisabhängig möglich zu sein scheint (7, 9).

b) Angebot von genügend Substrat für die Kollagenase in Form des Kollagenvlieses, um die erhöhte Kollagenase-Aktivität zu binden bzw. abzufangen.
Besonders der bereits von CRONIN (1968) experimentell nachgewiesene Abfall der Menge des Kollagens der Submucosa am 3. p.o. Tag mit dem dazu parallel verlaufenden Einbruch der mechanischen Festigkeit - gemessen am Berstungsdruck - (18) scheint dem Argument des Substratmangels (7) Berechtigung zu verschaffen.

Zur Überprüfung der unter b) genannten Möglichkeit schien deshalb eine tierexperimentelle Applikation eines speziell gefertigten quervernetzten Aldehyd-denaturierten Kollagenvlieses (Fa. BRAUN-MELSUNGEN) indiziert.

1.2.3.2. Kollagen und Hydroxyprolin

Kollagen ist im menschlichen Organismus das wichtigste Skleroprotein. Es besteht aus den Aminosäuren Glycin (33 %), Prolin (11,5 %), Hydroxyprolin (12,5 %) sowie Alanin, ist in Form einer Tripelhelix formiert und zeichnet sich durch eine enorme Zugfestigkeit aus. Kollagen stellt den Hauptteil (ca. 30 - 50 %) der Trockenmasse des Bindegewebes dar, wobei Hydroxyprolin fast ausschließlich bei Kollagen vorkommt und als Indikator des Kollagenumbaus gesehen werden kann (31).

Die quantitative Bestimmung des Kollagens erfolgt mit Hilfe des Hydroxyprolintestes nach WOESSNER (5, 6, 7, 8, 9, 78).

2. FRAGESTELLUNG

Die eingangs erwähnten positiven experimentellen wie klinischen Erfahrungen auch an Enteroanastomosen regten an, die Rolle der Fibrinklebung sowie der Kollagenvlies-Ummantelung als Sicherung der Anastomose am Rattenkolon zu prüfen.

Zusätzlich wurde untersucht, wieviel Fibrin tatsächlich auch postoperativ verbleibt, wenn es alleine oder in Kombination mit dem Kollagenvlies appliziert wurde.

Das Kollagenvlies wiederum interessierte nicht nur wegen seiner - in der bisherigen Forschung als günstig erachteten - Funktion als Träger des Fibrins, sondern auch als Substratangebot für die oben beschriebene, bei der Kolonanastomose erhöht aktivierte Kollagenase.

Da die Anastomosen-Festigkeit auch von der Kapillareinsprossung in der Submucosa abhängt (43), lag die Beurteilung der Vaskularisierung mittels Mikroangiographie und Histologie (letztere auch zur Einschätzung der Gewebereaktion) nahe.

Folgende Fragestellungen galt es zu beantworten:

1. Können die Fibrinklebung und/oder die Kollagenvlies-Ummantelung die Festigkeit der Anastomose am Rattenkolon (gemessen am Berstungsdruck) erhöhen?

2. Welches sind die
   a) histologischen (beurteilt nach dem Grad der Entzündungs- und Fremdkörperreaktion im HE-gefärbten Präparat),
   b) biochemischen (gemessen am Hydroxyprolingehalt) und
   c) anatomischen (beurteilt mittels Mikroangiographie und klinischer Inspektion am relaparotomierten Situs)

Folgen bei der Applikation von Fibrinkleber und/oder Kollagenvlies-Ummantelung sowie bei der reinen Naht ohne zusätzliche Anastomosen-Sicherung?

3. Wie lange verbleibt der Fibrinkleber an der Anastomose (gemessen an der ^{125}Jod-Fibrinogen-Kinetik)?

4. Welche Schlußfolgerungen lassen sich aus dieser tierexperimentellen Studie für weitere experimentelle Fragestellungen und für die klinische Anwendung ziehen?

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. Versuchsaufbau

Es wurden nach der Form der Behandlung 4 Gruppen à 48 Ratten gebildet:

I. Kolonanastomose genäht ohne weitere Behandlung

II. Kolonanastomose genäht mit zusätzlicher Fibrinklebung

III. Kolonanastomose genäht mit Kollagenvlies-Ummantelung (ohne zusätzliche Fibrinklebung)

IV. Kolonanastomose genäht mit Kollagenvlies-Ummantelung und zusätzlicher Fibrinklebung

Bei den Gruppen II und IV wurde sowohl ein radio-^{125}Jod-markierter als auch nicht radioaktiver Fibrinkleber verwandt.

Jede dieser 4 Behandlungsgruppen wurde weiter hinsichtlich des Zeitpunktes der Tötung der Tiere in weitere 4 Gruppen à 12 Ratten unterteilt: 3., 5., 7. und 9. postoperativer (p.o.) Tag.

Diese Gruppen wiederum wurden alle hinsichtlich folgender experimenteller Parameter untersucht:

A. Berstungsdruckmessung (alle Ratten)
B. Hydroxyprolinbestimmung (je 7 Ratten)
C. Mikroangiographie (je 3 Ratten)
D. Histologie (je 3 Ratten)
E. ^{125}Jod-Fibrinogen-Kinetik - Messung (je 10 Ratten pro Gruppe II und IV)

Zur Verdeutlichung läßt sich der Untersuchungsfortgang nach folgendem Schema skizzieren:

Gruppe Behandlungsform	Gruppe p.o. Tötungs-zeitpunkt	Untersuchungen
I	3.	A,B,C,D
II	3.	A,B,C,D und E
III	3.	A,B,C,D
IV	3.	A,B,C,D und E
I	5.	A,B,C,D
II	5.	A,B,C,D und E
III	5.	A,B,C,D
IV	5.	A,B,C,D und E
I	7.	A,B,C,D
II	7.	A,B,C,D und E
III	7.	A,B,C,D
IV	7.	A,B,C,D und E
I	9.	A,B,C,D
II	9.	A,B,C,D und E
III	9.	A,B,C,D
IV	9.	A,B,C,D und E

Schema: Versuchsaufbau

Aus Gründen der Strahlenschutzverordnung durften Ratten, die mit zusätzlichem radio-^{125}Jod-markiertem Fibrinkleber behandelt wurden, nicht aus dem nuklearmedizinischen Labor (etwa zur histologischen Diagnostik, zur Mikroangiographie und zur Hydroxyprolinbestimmung) entfernt werden, weshalb hinsichtlich der Behandlungsgruppen II und IV zu den 12 mit inaktivem Fibrinkleber behandelten je Tötungszeitpunkt noch je 10 Ratten mit ^{125}Jod-markiertem Fibrinkleber mit und ohne Kollagenvlies-Ummantelung operiert wurden.

3.2. Operationstechnik

3.2.1. Versuchstiere

Männliche Sprague-Dawley-Ratten der Fa. BÜCHNER (8221 Chienberg) mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von ca. 300 g dienten als Versuchstiere. Sie wurden vor und nach der Operation im klimatisierten Tierstall des Chirurgischen Labors des Klinikums Steglitz, zu mehreren in einem Käfig, aufbewahrt und konnten beliebig Futter (Atromin 1324 Spezialfutter, Fa. ALTROGGE GmbH, 4937 Lage) und Wasser zu sich nehmen.

3.2.2. Nahtmaterial

Kolonanastomosen:	atraumatischer monofiler Polypropylenfaden (6/0 Prolene mit C 1-Nadel (Fa. ETHICON, Hamburg);
Bauchwand:	atraumatischer Polyamidfaden 2/0 Suturamid, FSL-Nadel (Fa. ETHICON, Hamburg)

3.2.3. Desinfektion

Zur Desinfektion der Bauchwand wurde PVP-Jod-Propanol-Spray (Fa. BRAUN GmbH, Melsungen) verwendet.

3.2.4. Narkosemittel

a) Äther pro Narcosi (Fa. HOECHST AG) zur initialen Kurzbetäubung

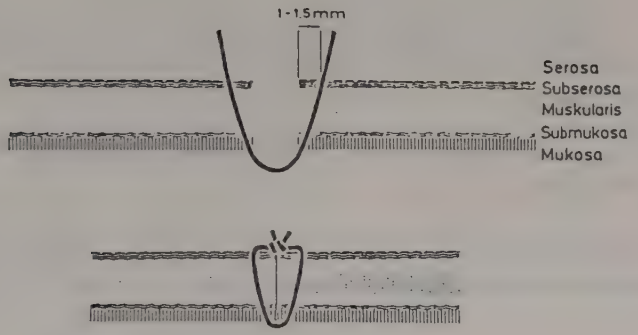
b) Nembutal^{R} (Pentoarbital-Natrium; Fa. Kela Laboratories, Hoogstraten, Belgien), 40 mg pro kg Körpergewicht zur Langzeit-Narkose

3.2.5. Vorbereitung, Anästhesie, operatives Procedere sowie Nahttechnik

Präoperativ wurden die Ratten in einem äthergefüllten Glaszylinder betäubt, die Bauchdecken rasiert und gewogen. Anschließend applizierten wir 40 mg/kg Körpergewicht intraperotonealer Nembutal^{R}-Injektion als Langzeitanästhetikum.

Nachdem nach etwa 10 Minuten die nötige, ungefähr 2 Stunden andauernde Narkosetiefe erreicht war, wurde die Ratte auf einem Korkbrett fixiert, die Bauchdecken mit dem PVP-Jod-Spray desinfiziert, eine ca. 4 - 5 cm lange mediane Längslaparatomie durchgeführt und die Bauchhöhle nach möglichen Läsionen (möglich durch die Nembutal^{R}-Injektion, s.o.), Verwachsungen, Entzündungszeichen oder Tumoren abgesucht. Danach erfolgte die vorsichtige Mobilisierung des rektosigmoidalen Kolons, seine Eventrierung und Fixierung mittels zweier Haltefäden, behutsame Wegmassage etwa vorhandener Kotteile und - unter größtmöglicher Schonung der Arkadengefäße sowie Ae. rectae - die Kolondurchtrennung mittels chirurgischer Schere.

Schematische Darstellung der Allschicht-Naht auf Stoß:



aus: BAER (5)

Nunmehr erfolgte die einreihige Allschicht-Naht auf Stoß mit 12 Einzelknopfnähten (mittels 6/0 Prolene mit C 1-Nadel). Die Nähte wurden zunächst an der Vorderwand, dann an der Hinterwand des Kolons gesetzt.

Anschließend wurde die Anastomose vorsichtig auf Festigkeit und Durchgängigkeit für Darminhalt geprüft, der Darm in die Bauchhöhle verlagert, das Peritoneum sowie die Bauchwand durch einen fortlaufenden 3/0-Suturamid-Faden mit FSL-Nadel verschlossen und diese Allschicht-Naht nochmals mit PVP-Jod-Spray desinfiziert.

3.2.6. Fibrinklebung

Es wurde sowohl radioaktiv-markierter wie auch unbehandelter (inaktiver) Fibrinkleber appliziert, um

1. zu prüfen, ob seine Anwendung zusätzlich zur Anastomosennaht für diese eine erhöhte Festigkeit bedeutet, und um
2. zu sehen, wie lange der Fibrinkleber am Ort der Klebung verbleibt.

Der Fibrinkleber ist ein aus zwei Lösungen (I und II) bestehendes physiologisches Klebesystem (Abb. 2).

3.2.6.1. Fibrinkleber

3.2.6.1.1. Nicht-radioaktiver Fibrinkleber

Bestandteile: Lösungen I und II

Lösung I:

100 mg humanes Fibrinogen (Humanfibrinogen^{R}, Fa. BEHRING-WERKE AG, Marburg), gelöst in 1,5 ml physiologischer NaCl-Lösung (0,9 %)

Lösung II:

a) 4 ml ≙ 250 Einheiten hochgereinigter Faktor XIII - Konzentration (Fibrogammin^{R}, BEHRING-WERKE AG, Marburg), gelöst in

b) Lösung aus: 1 ml Aprotinin-Lösung 20000 KIE (Antagosan^{R}, Fa. BEHRING)
1 ml 5,5 % $CaCl_2$-Lösung (Fa. BRAUN, Melsungen)
3 ml physiologische NaCl-Lösung (0,9 %)

c) 3000 NIH Thrombin (Topostasin^{R}, Fa. HOFFMANN LA ROCHE, Grenzach) werden durch die Lösungen a) und b) aufgelöst.

3.2.6.1.2. Radioaktiv-^{125}Jod-markierter Fibrinkleber

Bestandteile: Lösungen I und II

Lösung I:

0,8 mg jodiertes (^{125}J)-Human-Fibrinogen (Fa. AMERSHAM BUCHLER GmbH Co. KG, Braunschweig-Wenden) gemischt mit 9,2 mg inaktivem Fibrinogen und gelöst in 0,2 ml physiologischer NaCl-Lösung (0,9 %)

Lösung II:

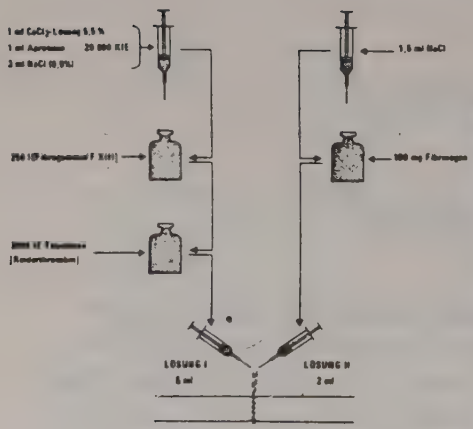
wie bei nicht-aktivem Fibrinkleber

3.2.6.2. Durchführung der Fibrinklebung

Nach Herstellung der Anastomose wurden die Lösung I und - nachdem diese fühlbar haftete - die Lösung II tröpfchenweise (etwa 2 Tropfen) mittels einer 2 ml-Spritze auf den Nahtbereich und etwa je 5 mm proximal und distal davon aufgebracht. Damit sich die Tropfen gleichmäßig auf Vorder- und Hinterwand verteilten und nicht zusätzliche Verklebungen verursachend in die Peritonealhöhle abfließen, wurde vor der Klebung das anastomosierte Darmsegment an den Haltefäden hochgehalten und das Peritoneum durch mit physiologischer NaCl-Lösung getränkten Lappen abgedeckt. Nach ca. 5 Minuten war ein durchsichtiger, gallertartig-fester, zirkulärer Fibrinbelag entstanden, und die Bauchwunde konnte - nach Entfernung der Haltefäden - verschlossen werden.

FIBRINKLEBUNG

Abb. 1:
Hochhalten des anastomosierten Darmsegments



Schema zur Herstellung des Fibrinklebers. Auf die Wunde werden Lösung I und Lösung II zusammengegeben

Abb. 2
Herstellung des Fibrinklebers (5)

Abb. 3:
Aufträufeln des Fibrinklebers auf die Anastomose

3.2.7. Kollagenvlies-Ummantelung

In den bisherigen tierexperimentellen Studien waren lediglich die in der Chirurgie üblichen Kollagenvliese (Pentapharm^{R}, Tachotop^{R}) verwandt worden. Klinische Beobachtungen jedoch zeigten, daß sich diese Kollagenvliese intraperitoneal schnell auflösen, was durch in-vitro-Experimente bestätigt wurde. Zugleich zeigten diese Experimente, daß aldehydvernetzte Kollagenvliese eine geringere Thrombozytenaggregation induzierten, jedoch eine höhere Reißfestigkeit zeitigten (71).

3.2.7.1. Kollagenvlies

Es fand ein speziell aus juveniler Rinderhaut hergestelltes Kollagenvlies Verwendung, das nachträglich mittels Formaldehyd quervernetzt wurde (77).

3.2.7.2. Durchführung der Kollagenvlies-Ummantelung

Die Kollagenvlies-Ummantelung erfolgte sowohl mit als auch ohne gleichzeitige Fibrinkleber-Applikation. Das Kollagenvlies wurde (etwa 1 cm breit und 3 cm lang) - nach Anlage der Anastomosennaht - zirkulär um das Kolon im Bereich der bzw. über die Anastomose gelegt und vorsichtig aufgedrückt.

Bei der Kombination des Kollagenvlieses mit radioaktivem oder inaktivem Fibrinkleber wurde so verfahren, daß zunächst der Fibrinkleber aufgebracht wurde und dann das Kollagenvlies nach etwa 2 Minuten - bevor der Fibrinkleber ganz

KOLLAGENVLIES-UMMANTELUNG I: Vorbereitung

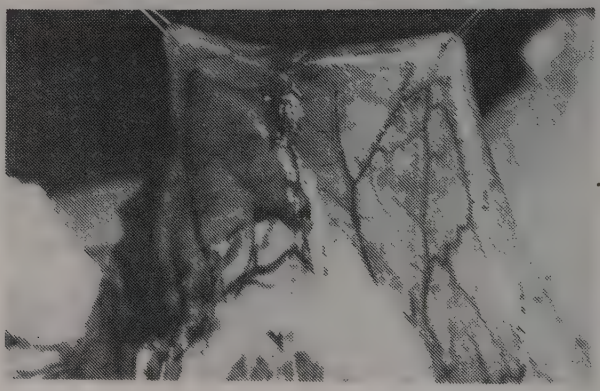


Abb. 4: Anastomosierung und Hochhalten des Darmsegments
Gesamtvergrößerung: 3fach

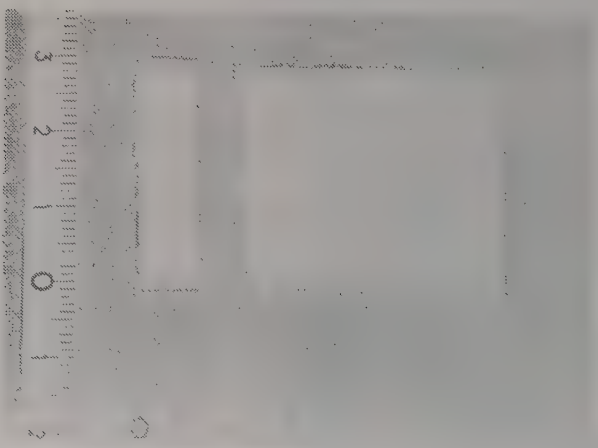


Abb. 5: Schneiden eines Kollagenvlies-Streifens

KOLLAGENVLIES-UMMANTELUNG II: Durchführung

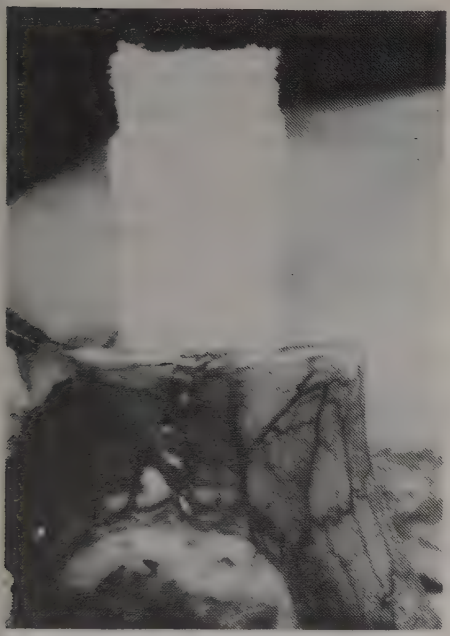


Abb. 6: Anlegen an der Vorderwand
Gesamtvergrößerung: 3fach

Abb. 7: Anlegen an der Hinterwand
Gesamtvergrößerung: 3fach

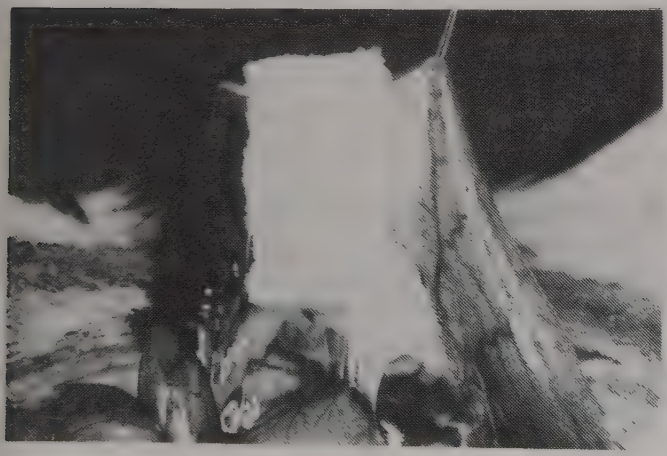


Abb. 8:
Zirkuläre Ummantelung
Gesamtvergrößerung: 3fach

angetrocknet war - auf diesen aufgelegt und ein wenig anmodelliert wurde.

Erfolgte die Kollagenvlies-Ummantelung ohne Fibrinkleber, wurde das Kollagenvlies direkt auf die Anastomose, zirkulär um das Kolon, gelegt und wiederum vorsichtig anmodelliert.

3.2.8. Klinische Nachkontrolle und Explantation

Nach Beendigung der Operation wurden die Versuchstiere solange beobachtet, bis sie wieder aus der Narkose erwachten und im Käfig herumliefen. Danach wurden täglich insbesondere die Defäkation und die Intaktheit des Bauchwand-Wundverschlusses kontrolliert.

Bei der Relaparotomie zur Explantation des anastomosierten Dickdarmsegments wurde auf eventuelle Kotstauungen und Verwachsungen geachtet und - wenn vorhanden - auf dem Protokollblatt vermerkt.

3.3. Die experimentellen Parameter und ihre technische Durchführung

3.3.1. Berstungsdruckmessung

Im Gegensatz zu anderen, die Zugfestigkeitsprüfung bevorzugenden Studien (vgl. z. B. 53), diente zur Bestimmung der Festigkeit der Kolonanastomose der Ratte die Berstungsdruckmessung, da sie den physiologischen Gegebenheiten des Darms (auch hier besteht ja eine Innendruckbelastung) u. E. am ehesten entspricht.

3.3.1.1. Durchführung der Berstungsdruckmessung

Zu diesem Zweck wurde am relaparatomierten Tier etwa 2 cm proximal der Anastomose ein Polyäthylenschlauch (5 mm Durchmesser) in das Darmlumen eingeführt, wobei die Schlauchöffnung in etwa in der Höhe der Anastomose zu liegen kam, und kräftig zusammen mit dem Darm ligiert. Ca. 1,5 - 2 cm distal der Anastomose wurde der Darm ebenfalls ligiert. Nach Schlauchimplantation und beiden Ligaturen wurde das Darmsegment rasch herausgetrennt, in ein Bad mit physiologischer NaCl-Lösung getaucht und umgehend die Berstungsdruckmessung begonnen.

Diese erfolgte mittels eines Quecksilbermanometers (nach BAUKNECHT), das so konstruiert ist, daß es die von einer Gasdruckflasche kommende Druckluft über einen mechanisch regulierbaren Druckwandler in das präparierte Darmlumen im Bereich der Anastomose führt. Der hier auftretende, stetig, jedoch keinesfalls zu schnell (ungefähr 5 mmHg pro Sekunde) zu steigernde Luftdruck wiederum wird auf eine Quecksilbersäule übertragen, die bis zu 300 mmHg skaliert ist.

Grundsätzlich wurde derjenige Druck gemessen, bei welchem die ersten Luftblasen als Zeichen der beginnenden Anastomoseninsuffizienz aus dem Darmlumen durch das Bad aufstiegen. Besonders - aber nicht nur - kam es bei der Kollagenvlies-Ummantelung meist zu einer explosionsartigen Ruptur der Anastomose (3. und 5. p.o. Tag) oder distal davon (eher am 7. und 9. p.o. Tag).

Als Normalwerte beim unbehandelten Kolon fanden sich in tierexperimentellen Studien Werte von ca. $\bar{x}$ = 170 mmHg (5,18). Dieser Wert galt auch in dieser Studie als Ausgangswert.

BERSTUNGSDRUCKMESSUNG I

Abb. 9: Druckmeßgerät

Abb. 10: Fixierung des Druckschlauches im Darmlumen des Anastomosenbereichs. Gesamtvergrößerung: 3fach

Abb. 11: Entnahme des Darmsegments Gesamtvergrößerung: 3fach

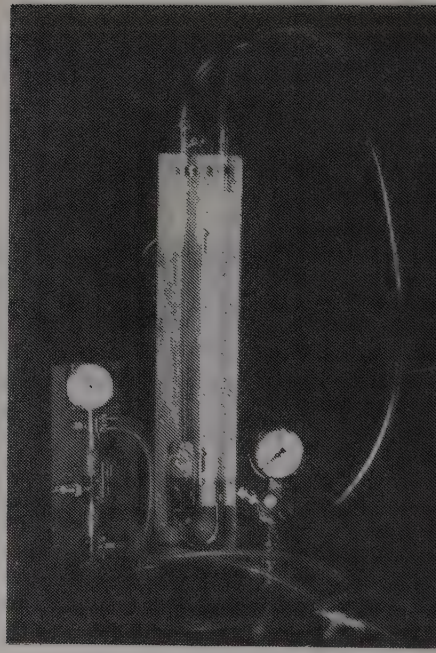


Abb. 9

Abb. 10

Abb. 11

BERSTUNGSDRUCKMESSUNG II

Abb. 12: Berstung im Wasserbad. Gesamtvergrößerung: 3fach

Abb. 13: Rupturstelle nach der Berstung Gesamtvergrößerung: 3fach

3.3.2. Hydroxyprolinbestimmung

Die bereits von WOESSNER (1961) entwickelte Hydroxyprolinbestimmung in der heutigen Form gilt als eine in vielen tierexperimentellen Untersuchungen bewährte Methode.

3.3.2.1. Geräte, Reagenzien und Puffer

Präzisionswaage Typ 2604 (Fa. SARTORIUS GmbH)
Spektralphotometer Beckmann DB
Inkubator Typ KT 500 (Fa. W. C. HAEREUS)
Bombenröhrchen (Glasbläserei des Klinikums Steglitz)

Methylrot - Indikator	(Fa. MERCK)
6 n HCl	"
2,5 n HaOH	"
Methylcellosolve (Äthylenglycolmonomethyläther)	"
2 %ige Paradiemthylaminobenzaldehydlösung	"
Citronensäure - 1 - Hydrat	"
Essigsäure 99 - 100 %	"
Natriumacetat krist.	"
Natriumhydroxid-Plätzchen	"
Perchlorsäure	(Fa. BOEHRINGER, Mannheim)
Chloramin T	(Fa. v. HEYDEN, München)
Hydroxyprolin-Standard	(Fa. FLUKA AG, Buchs/Schweiz)

3.3.2.2. Durchführung der Hydroxyprolinbestimmung

a) Probenbehandlung

Nach Entnahme des anastomosierten Darmsegments wurde nach vorsichtigem Abpräparieren von pericolischen Adhäsionen und - soweit appliziert - vorhandenen Kollagenvlies-Resten und Abspülen von Faeces je eine etwa 2 mm Durchmesser große Darmprobe direkt an der Anastomose und etwa 1,5 cm proximal davon entnommen, bei 100 °C getrocknet und das Trockengewicht (TG in mg) bestimmt. Diese Proben wurden in einem verschweißten Glasröhrchen durch 6 n HCl bei 110 °C 24 Stunden hydrolysiert. Die anschließende Neutralisation mit 2,5 n NaOH auf einen pH von 6 - 7 erfolgte unter Methylrot-Indikator-Kontrolle.

b) Standardlösung

In Teströhrchen werden je 2 ml Portionen, die 1 - 5 µg Hydroxyprolin enthalten, gegeben; daraus ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen Absorption und Konzentration.

c) Hydroxyprolinbestimmung

Die Hydroxyprolinbestimmung im engeren Sinne wird, nachdem alle Reagenzien und Puffer (s.o.) vorbereitet sind, mit der Hydroxyprolin-Oxydation durch die Zugabe von 1 ml Chloramin T unter Addition von Methylcellosolve und Puffer eingeleitet. Nach Schütteln und 20minütiger Einwirkungszeit bei Raumtemperatur wird 1 ml Perchlorsäure hinzugegeben (wodurch das Chloramin T inaktiviert wird) und dieses Gemisch wiederum 5 Minuten stehen gelassen.

1 ml 2 %iges Dimethylaminobenzaldehyd wird unter Addition von 80 ml Methylcellosolve dazugegeben und solange ge-

schüttelt, bis keine Schlieren mehr zu sehen sind. Die hierbei - nach 5minütiger Kühlung unter dem Wasserhahn - entwickelte Farbe ist ca. 1 Stunde stabil und sollte möglichst umgehend gemessen werden.

d) Photometrische Messung

Extinktionsmessung der Lösung mit dem Extinktionsmeßgerät bei 557 nm mit der Standardlösung als Referenzwert.

e) Normalwert

Als Normalwert konnte BAER (1982) am unbehandelten Rattenkolon einen Hydroxyprolin-(HP-)Wert von x = 23,1 µg pro 1 mg Trockengewicht (TG) nachweisen. Dieser Wert gilt auch in dieser Studie als Ausgangswert für den postoperativen Verlauf.

3.3.3. ^{125}Jod-Fibrinogen-Kinetik - Messung

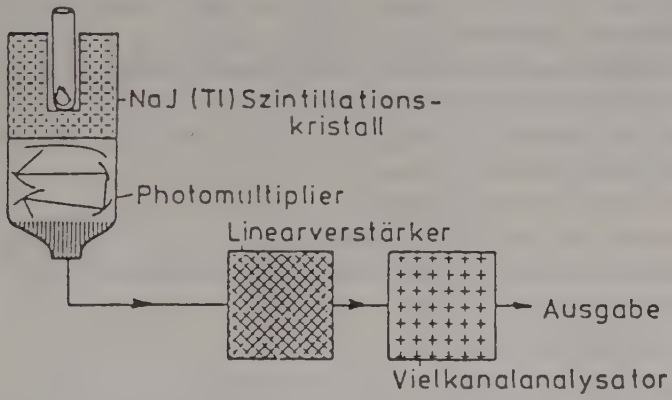
Die Messung der Verbleibens-Dauer des Fibrinklebers mit oder ohne Kollagenvlies-Ummantelung an der Anastomose erfolgte durch Verwendung des radioaktiv mit ^{125}Jod markierten Fibrinogens als Bestandteil des Fibrinklebers.

3.3.3.1. Material und Geräte

Das ^{125}Jod des in gefriergetrockneter Form verfügbaren ^{125}Jod-Fibrinogens (Fa. AMERSHAM BUCHLER) hat eine physikalische Halbwertszeit von 60 Tagen und emittiert 35 KeV

Gamma-Strahlen sowie 27 KeV Röntgen-Strahlen. Die Messung erfolgte im Bohrloch des Szintillationszählers (Fa. BAIRD ATOMIC). Zur Auftragung des Fibrinklebers wurden Eppendorf-Pipetten benutzt.

Schaltbild für Probenmessungen mit einem NaJ (Tl) - Bohrlochdetektor
aus: PUSTELNIK (55)



3.3.3.2. Durchführung der Kinetik - Messung

Die Kinetik - Messung des ^{125}Jod-Fibrinogens wurde folgendermaßen (im Labor der Nuklearmedizinischen Abteilung, Leitung: Prof. Dr. K. Oeff) durchgeführt:

0,8 mg radioaktives ^{125}Jod-Fibrinogen wurde mit 9,2 mg inaktivem Fibrinogen gemischt und anschließend mit physiologischer NaCl-Lösung (0,9 %) auf ein vorher festgelegtes Gesamtvolumen von 0,2 ml in Lösung gebracht (Lösung I). Dieses Gemisch aus aktivem und inaktivem Fibrinogen wurde herge-

stellt, um die Strahlenmenge möglichst niedrig zu halten, da ja das ^{125}Jod-Fibrinogen nur als Tracer fungierte; die alleinige Verwendung des aktiven Fibrinogens verbat sich auch aus Kostengründen.

Aus diesem Gemisch von aktivem und inaktivem Fibrinogen wurden je 0,025 ml (Eppendorf-Pipette) als Operationsdosis auf die Anastomose sowie als Kontroll-Meßprobe in einen Meßkolben gegeben. Die Meßprobe in diesem Meßkolben wurde, um Totzeitfehler wegen zu hoher Aktivität des Standards zu vermeiden, auf 100 ml mit physiologischer NaCl-Lösung (0,9 %) aufgefüllt, womit der Ratten-Organ-Standard = 100 % verabreichte Menge pro Ratte in 100 ml definiert war. Davon wurden 2 Meßproben à 1 ml = 1/100 entnommen, im Bohrloch die Impulsrate pro Minute bestimmt, diese wieder auf das volle Meßkolbenvolumen zurückgerechnet (d. h. mit 100 multipliziert) und ihr Mittelwert bestimmt. Dies entsprach dann 100 % der im Versuch verabreichten Menge = Ausgangswert. Durch die gleichzeitige Messung des Vergleichsstandards und der Proben vermieden wir eine Meßfehler-Entstehung durch den physikalischen Zerfall des Nuklids.

Sodann wurden die Lösungen I und II (letztere wie beim inaktiven Fibrinkleber bestehend aus 3000 NIH Thrombin, 250 E Faktor XIII-, Aprotinin-, $CaCl_2$- und NaCl-Lösung) auf die Anastomose mit oder ohne Kollagenvlies-Ummantelung aufgetragen.

Vor der Messung am 3., 5., 7. und 9. p.o. Tag wurde das Meßgerät auf Genauigkeit und Zuverlässigkeit geprüft. Dann wurden die Aktivitäten der Ratten-Organ-Standards gemessen. Dabei wurde zur Vermeidung von Meßfehlern darauf geachtet, daß bei der Messung im Bohrloch stets gleiche Füllhöhen des Standards wie der Proben vorhanden waren.

Zur Messung der noch an der Anastomose vorhandenen Aktivität des im Fibrinkleber enthaltenen ^{125}Jod-Fibrinogens selbst wurde das entsprechende Darmsegment (im rektosigmoidalen

Bereich) entnommen, in ein Glasröhrchen eingebracht, im Bohrloch des Szintillationszählers gemessen und zum Ausgangswert (= Organstandard) ins Verhältnis gesetzt.

Ebenfalls gemessen wurden die Aktivitäten in Schilddrüse, Leber, Nieren (linke und rechte getrennt) und Milz - unter Beachtung der jeweiligen Organgewichte - zum jeweiligen Tötungszeitpunkt und zum Organstandard ins Verhältnis gesetzt, um die Stabilität des radio-^{125}Jod-markierten Fibrinklebers einschätzen zu können.

Durch die prozentual an der Kolonanastomose gemessene Aktivität konnte die Menge des tatsächlich an der Anastomose verbliebenden Fibrinklebers und damit seine Verweildauer ermittelt werden.

3.3.4. Mikroangiographie

Die Mikroangiographie, die "durch räumliche Darstellung der Arteriolen und Kapillaren eine strukturanalytische Aussage über Vaskularisierung bzw. Vaskularisierungsprozesse in Geweben zuläßt" (43, S. 2), wurde im wesentlichen entsprechend der von BAER (1982) modifizierten Methode durchgeführt.

3.3.4.1. Material und Geräte

Kontrastmittel: 3 %ige Bariumsulfat-Lösung, Teilchengröße 1 µ (6 %ige Mikropaque, Fa. NICKOLAS, Sulzbach/Taunus)

Gepufferte Formalinlösung nach LILLY
Heparin-Calcium-Braun
Physiologische NaCl-Lösung (0,9 %)
Röntgengerät MTK 140 BI (Fa. Ch. MÜLLER, Hamburg) mit der Röntgenröhre Typ MON 140
Plattenfilm der Fa. KODAK
Lietz-Orthoplan-Fotomikroskop
Polyäthylenschlauch (2 mm Ø)

3.3.4.2. Durchführung der Mikroangiographie

a) Organperfusion

Nach Relaparatomie 500 IE Heparin-Injektion in die Vena cava; Einführung und Ligatur eines distalwärts gerichteten Polyäthylenschlauches in die Aorta abdominalis bis distal der Abgänge der Ae. renales mit Ligatur der Aorta proximal der Einführungsstelle des Schlauches; 2 etwa 5 bis 10 mm getrennte Anschlingungen der Vena portae; Infusionsspülung mit 37 °C warmer, 5000 E/l Heparin enthaltender Heparin-Lösung unter konstantem Druck von 100 mmHg; Ligatur der kranialen Vena-porta-Anschlingung und Eröffnung der Vena portae zwischen kranialer Ligatur und caudaler Anschlingung; Eröffnung der Vena cava; nach kompletter Blutausspülung Kontrastmittelperfusion der 37 °C warmen Bariumsulfat-Lösung bis alle Gefäße insbesondere am interessierenden Darmsegment sichtbar weiß mit Kontrastmittel gefüllt waren; Anschlingung der Mesenterialgefäße, Ligatur der kaudalwärtigen Anschlingung der Vena portae zur Vermeidung

MIKROANGIOGRAPHIE I

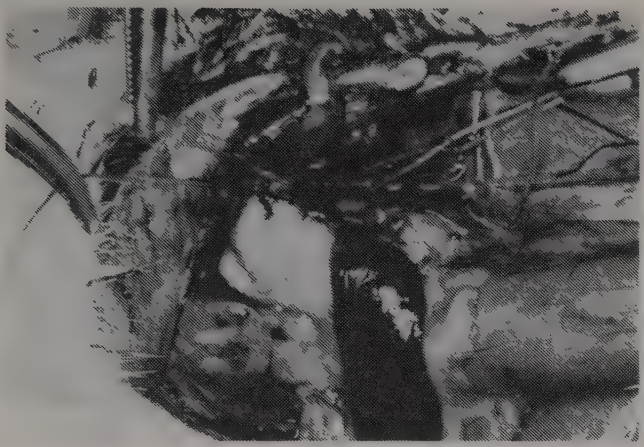


Abb. 14: Eröffnung und Anschlingung der Aorta abdominalis
Einführung des Perfusionsschlauches
Gesamtvergrößerung: 3fach

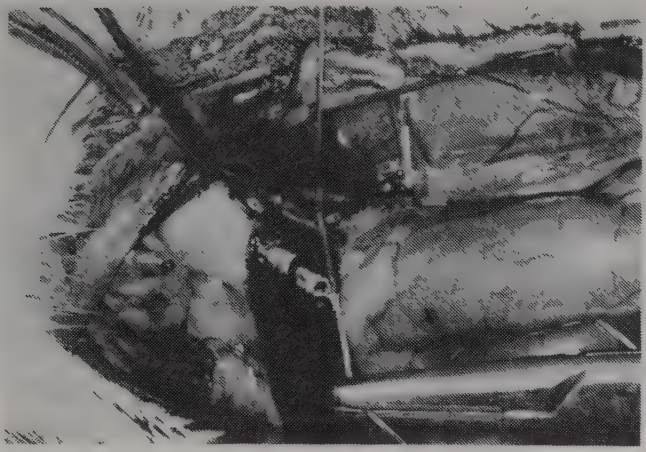


Abb. 15: Ligatur der angeschlungenen Aorta abdominalis
mit dem Perfusionsschlauch
Gesamtvergrößerung: 3fach

MIKROANGIOGRAPHIE II

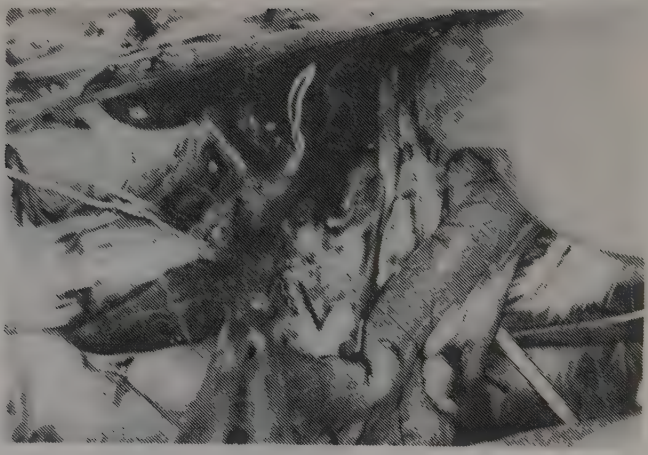


Abb. 16: Anschlingung der Vena portae vor Eröffnung
Gesamtvergrößerung: 3fach

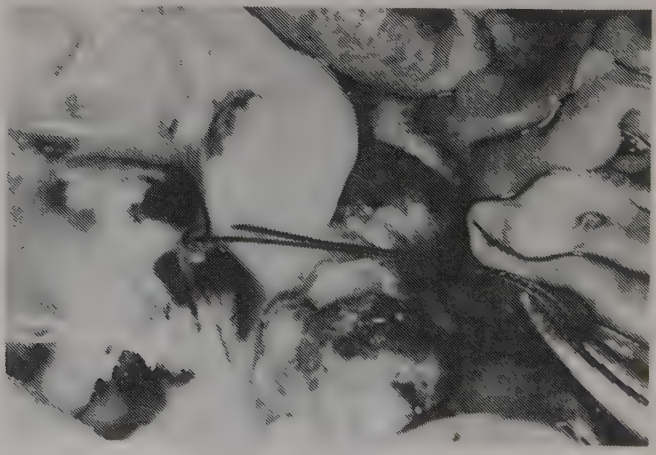


Abb. 17: Nach Eröffnung der Vena portae während der Kontrastmittelperfusion
Gesamtvergrößerung: 3fach

MIKROANGIOGRAPHIE III

Abb. 18: Nach Abschluß der Perfusion bei alleiniger Naht bzw. bei zusätzlicher Fibrinklebung: mit Kontrastmittel gefüllte Darmwandgefäße
Gesamtvergrößerung: 3fach

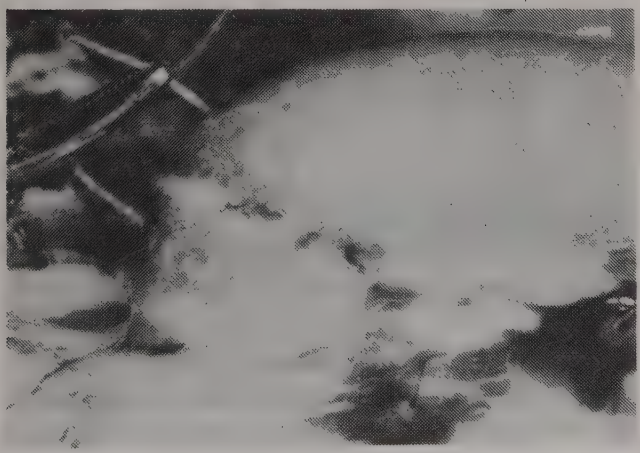


Abb. 19: Nach Abschluß der Perfusion bei Kollagenvlies-Ummantelung: mit Kontrastmittel gefüllte Gefäße der Darmwand und der Kollagenvlies-Epithelialisierung
Gesamtvergrößerung: 3fach

weiteren Kontrastmittelabflusses und Beendigung der Kontrastmittel- Perfusion; Ligatur der angeschlungenen Mesenterialgefäße; Ligatur des Lumens des anastomosierten Darmsegments jeweils ca. 1,5 bis 2 cm proximal und distal der Anastomose und Herauspräparation des Darmsegments.

b) Präparatfixation und Mikroangiographie

Nach 1-wöchiger Fixierung des perfundierten Darmsegments in gepufferter Formalinlösung nach LILLY wurde es mit einem Längsschnitt aufgeklappt. Ein ca. 1 - 2 mm breiter Längsstreifen - also quer zur Anastomose - wurde mit dem Skalpell abgeschnitten. Vom Rest wurde längs der proximalen Anastomose ein ca. 1 mm dicker, zirkulär bleibender - da so fixierter - Streifen abgeschnitten. Beide Präparate wurden in Wachsblöcke eingebettet. Zur Mikroangiographie wurden die Wachsblöcke Präparate - nah aufgeschnitten und in der Dunkelkammer mit dem Röntgengerät mikroangiographiert.

3.3.5. Histologie

Nach Herauspräparation der anastomosierten Darmsegmente und nach mindestens 1wöchiger Fixierung in Formalinlösung nach LILLY wurden sie in Paraffin eingebettet und Hämatoxilin-, Eosin- und Elastica-van-Gieson-Färbungen unterzogen.

Die Präparate wurden hinsichtlich folgender histomorphologischer Aspekte beurteilt und durch eine Graduierung gewichtet (Grad 1 bis 3):

a) Entzündungs- und Exsudationszeichen:

Grad 1: geringe granulozytäre und monozytäre Infiltration, kaum Exsudat
Grad 2: deutliche exsudative Reaktion und herdförmige granulo- und monozytäre Einwanderung
Grad 3: massenhafte Durchsetzung des Entzündungsgebietes durch eingewanderte Granulo- und Monozyten.

b) Fibroblasten und Fibrozyten:

Grad 1: geringe Fibroblasten-Aktivität, wenige Fibrozyten
Grad 2: deutliche fibroblastische Aktivität, zunehmend Fibrozyten
Grad 3: hochgradige Fibroblasten-Aktivität, massenhaft Fibrozyten.

c) Bindegewebsdurchbau:

Grad 1: eben beginnende Kollagenfaserbildung
Grad 2: deutlich erkennbare Kollagenfaserbildung
Grad 3: fortgeschrittene Vernarbung

d) Fremdkörperreaktion:

Grad 1: fehlende oder nur vereinzelte Riesenzellen
Grad 2: beginnende herdförmige Riesenzellen-Bildung
Grad 3: überschießende Riesenzellenreaktion

e) Vaskularisierung:

Grad 1: Kapillaren in der Anastomose nicht erkennbar
Grad 2: beginnende Vaskularisierung: einzelne Kapillaren durchziehen die Anastomose
Grad 3: vollständige Vaskularisierung der Anastomose

Außerdem wurde auch die Anastomosenqualität beschrieben:

Grad 1: unauffällige, suffiziente Narbe
Grad 2: herdförmige, bis drei Einzelknopfnähte umfassende Nahtdehiszenz
Grad 3: Nahtdehiszenz ist über mehr als 1/3 der Anastomose ausgedehnt.

3.4. Statistische Methoden der Auswertung

Von jedem Versuchstier wurde ein Protokoll über Operation, Behandlungsart und Untersuchung erstellt und ermittelte Meßwerte und makroskopische Beobachtungen eingetragen. Von diesen Rohwerten wurde eine Elementarstatistik erstellt und pro Untersuchungsgruppe die Mediane bestimmt. Diese wurden mit der minimalen und maximalen Spannbreite in Diagramme eingetragen.

Zum Vergleich der Behandlungsformen (Gruppen I bis IV) wurden aus den Stichproben hinsichtlich der jeweiligen postoperativen Tötungszeitpunkte mit dem WILCOXON-Test für unabhängige Stichproben unter Zuhilfenahme der Geigy-Tabellen die Signifikanzen der Unterschiede und ihre Irrtumswahrscheinlichkeiten ($p \leq 0{,}01$; $-p \leq 0{,}05 \triangleq 1$ % bis 5 %-Signifikanzniveau) berechnet. Dabei wurde grundsätzlich von der Vergleichbarkeit der Stichproben (Versuchstiere: gleich in Rasse, Gewicht, Geschlecht, Ernährung und Haltung) und Beobachtungen (ein und derselbe Untersucher) ausgegangen.

V E R S U C H S - P R O T O K O L L

Ratte Nr: Gewicht:

OP.-Datum: Narkose: ml Nembutal

Anzahl der Einzelknopf-Nähte:

Tier verstorben: Nein

Ja Datum: = ... p.o. Tag

markoskopischer Aspekt:

Zusätzliche Behandlung: Nein

Ja: a. Fibrinkleber

b. Kollagenvlies + Fibrinkleber

Tier getötet am: ... p.o. Tag - Datum:

Makroskopischer Aspekt:

Berstungsmessung: mmHg

Berstungsort:

Radioaktivität des ^{125}Jod-markierten Fibrinklebers: (Imp/min)

am Tag der applikation:

am Tag der Berstungsmessung:

Hydroxyprolinbestimmung: Ja / Nein

Histologie: Ja / Nein

Mikroangiographie: Ja / Nein

Fotos: Nein / Ja - von:

Bemerkungen:

4. ERGEBNISSE

4.1. Operation

Insgesamt wurden 283 Versuchstiere operiert. 11 Versuchstiere (= 3,8 %) starben, davon 5 kurz nach Operationsbeginn an den Folgen der Narkose an - wahrscheinlich ätḥertoxisch bedingtem - Lungenödem, 3 Ratten mit Kollagenvlies-ummantelter Anastomose an mechanischem Ileus infolge kompletter Stenosierung der Anastomose zwischen dem 6. und 9. p.o. Tag. 2 weitere Ratten verendeten an eitriger Peritonitis, nachdem sie sich den Bauchwunden-Verschluß selbst aufgebissen hatten. 1 Tier schließlich starb ohne ersichtliche Ursache am 2. p.o. Tag.

Verwachsungen waren bei der überwiegenden Zahl (ca. 90 %) zu beobachten, fehlend bis gering ausgeprägt bei der reinen Naht und alleiniger Fibrinklebung, stärker bis stenosierend bei Kollagenvlies-Ummantelung, wobei man hinsichtlich der letzteren den Eindruck hatte, daß die Kombination von Kollagenvlies-Ummantelung mit Fibrinkleber ein wenig geringere Adhäsionen verursachte.

Während bei den nur genähten und ohne Kollagenvlies zusätzlich fibringeklebten Tieren keine oder nur vereinzelte dehiszente Einzelknopfnähte, die dann vollständig gedeckt waren, zu sehen waren, waren bei den Kollagenvlies-Ummantelungen ab dem 5. p.o. Tag schon makroskopisch mehrere Einzelknopf-Nähte umfassende Dehiszenzen zu diagnostizieren, die jedoch meist durch das Kollagenvlies oder stärkere, auch die Nachbarorgane (Blase, Samenblase, Hodenfett) involvierende Adhäsionen überdeckend zusammengehalten wurden. Auch waren des öfteren kleine Abszesse im Bereich der Anastomose zu sehen, und das Peritoneum entzündlich infiltriert. Besonders am 9. p.o. Tag waren die Kollagenvliese teilweise abgestoßen, entweder ins Darmlumen oder äußerlich von der Anastomose disloziert, und durch über-

OPERATIONSSITUS I

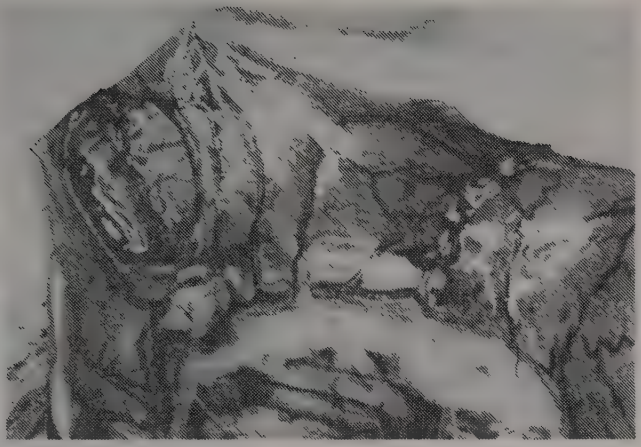


Abb. 20: Nach Anastomosierung der Vorderwand (links)
Nach kompletter Anastomosierung (rechts)
Gesamtvergrößerung 3fach

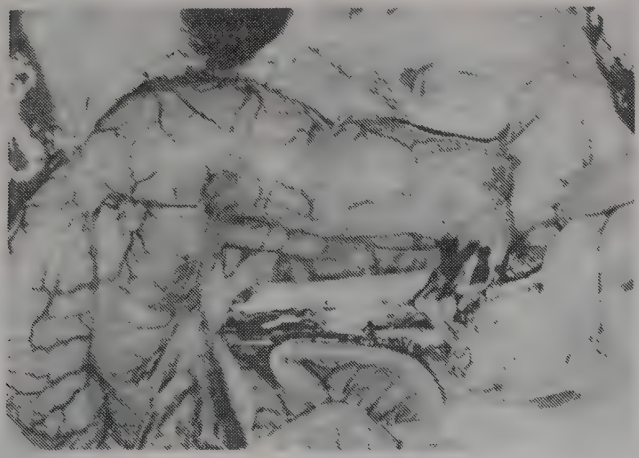


Abb. 21: Der relaparatomierte Situs am 9. p.o. Tag bei alleiniger Naht (ähnliches Bild bei zusätzlicher Fibrinklebung)
Gesamtvergrößerung 3fach

Abb. 22

OPERATIONSSITUS II

KOLLAGENVLIES-UMMANTELUNG
(9. p.o. Tag)

Abb. 22: Anastomose durch Verwachsungen bedeckt
Gesamtvergrößerung: 3fach

Abb. 23: Lymphangitis bei Kotstau im proximalen Kolon
Gesamtvergrößerung: 3fach

Abb. 24: Nach Abpräparation freigelegte Anastomose
Gesamtvergrößerung: 3fach

Abb. 23

Abb. 24

schießende, breite Narbenbildung ersetzt worden. Bei anderen Tieren war das Kollagenvlies an der Anastomose weitgehend organisiert und abgebaut.

Makroskopisch war vom Fibrinkleber bereits am 3. p.o. Tag nur noch wenig, am 5. p.o. Tag fast nichts, ab dem 7. p.o. Tag nichts mehr zu sehen.

4.2. Berstungsdruckmessung

Die Rupturstellen bei der intraluminalen Berstung lagen entweder an der Anastomose und eher proximal, als distal davon (letzteres vor allem bei den Kollagenvlies-ummantelten Anastomosen). Die Berstungsdrucke wurden in mmHg gemessen.

4.2.1. Alleinige Naht (Gruppe I)

Der Berstungsdruck bei den nur genähten Anastomosen sank am 3. p.o. Tag rapide auf $\tilde{x}$ = 53 (d = 25 - 120) mmHg ab.

Bereits am 5. p.o. Tag jedoch werden mit $\tilde{x}$ = 140 (d = 125 - 185) mmHg nahezu, am 7. p.o. Tag mit $\tilde{x}$ = 175 (d = 150 - 285) mmHg wieder die Ausgangswerte erreicht und teilweise schon, am 9. p.o. Tag mit $\tilde{x}$ = 232,5 (d = 175 - 270) mmHg sogar deutlich überschritten.

Während bei der Berstung die Luftblasenaustritte und Rupturen am 3. p.o. Tag noch an der Anastomose (makroskopisch meist deutlich sichtbar an den Einzelknopf-Nähten) selbst auftraten, geschah dies ab dem 5. p.o. Tag nur noch in ca. 30 % der Fälle, am 7. p.o. Tag und am 9. p.o. Tag fast nur noch proximal oder - seltener - distal davon.

4.2.2. Naht mit Fibrinklebung (Gruppe II)

Die Berstungsdrucke der fibringeklebten Anastomosen zeigten ein den mit alleiniger Naht sehr ähnliches Ergebnis: am 3. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 62,5 (d = 20 - 115) mmHg, am 5. p.o. Tag mit $\tilde{x}$ = 145 (d = 85 - 195) mmHg praktisch Ausgangswerte, am 7. und 9. p.o. Tag mit Werten von $\tilde{x}$ = 205 (d = 180 - 235) mmHg bzw. $\tilde{x}$ = 245 (d = 195 300) mmHg weit über den Normalwert unbehandelter Anastomosen.

Die Rupturen (kaum noch Luftblasen an der Anastomose) befinden sich am 3. p.o. Tag noch an der Anastomose selbst, danach fast ausschließlich proximal davon.

4.2.3. Kollagenvlies-Ummantelung ohne bzw. mit zusätzlicher Fibrinklebung (Gruppen III und IV)

Diese beiden Gruppen zeigen nahezu parallele Berstungsdruckverhältnisse, wobei lediglich am 3. p.o. Tag ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,05$) besteht:

Während sich beim alleinigen Kollagenvlies bereits bei $\tilde{x}$ = 115 (d = 95 - 140) mmHg die Ruptur ereignet (hier erstaunlicherweise noch teilweise Luftblasen sichtbar - einige Male wurde das Kollagenvlies bei der Berstung abgelöst und hochgeschleudert), geschieht diese bei der Kollagenvlies/Fibrinkleber-Kombination erst bei $\tilde{x}$ = 140 (d = 105 - 175) mmHg, also fast Normalwerten.

Die übrigen Werte bei der Gruppe III: 5. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 190 (d = 180 - 220) mmHg, 7. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 260 (d = 175 - 270) mmHg und 9. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 270 (d = 200 - 290) mmHg und bei der Gruppe IV: 5. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 180 (d = 165 - 240) mmHg, 7. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 255 (d = 215 - 300) mmHg und 9. p.o.

Tag $\tilde{x}$ = 260 (d = 215 - 310) mmHg

zeigen, daß bereits am 5. p.o. Tag Werte weit über dem physiologischen Ausgangswert erreicht werden.

Die Rupturen waren in der Mehrzahl der Fälle distal der Anastomose.

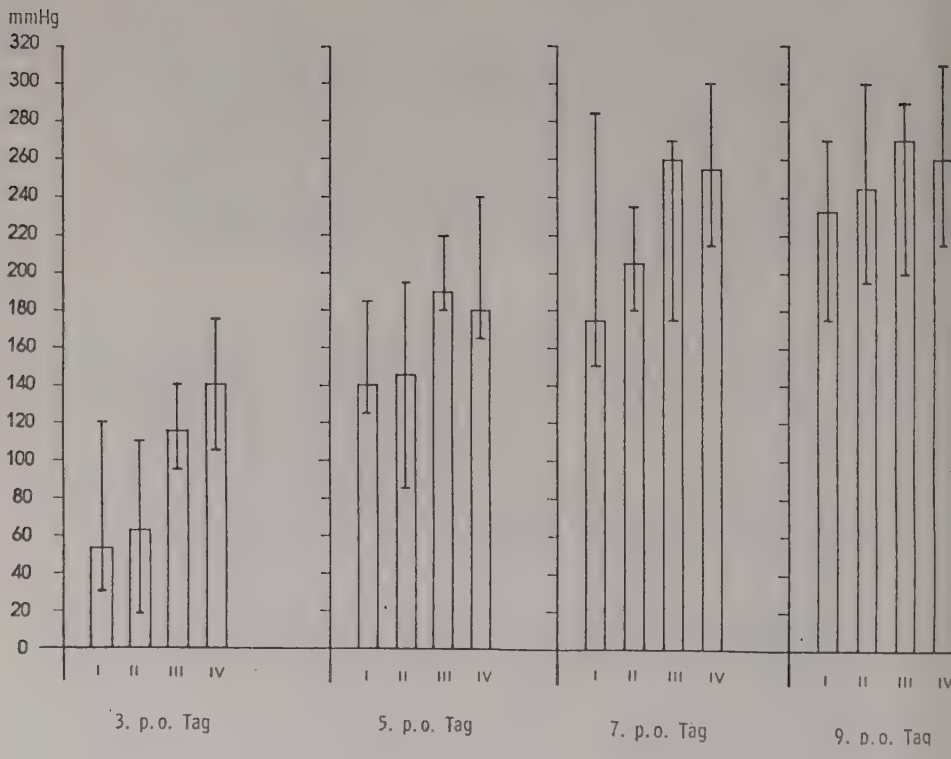
4.2.4. Vergleich der Gruppen I bis IV

Errechnet man die Signifikanzen der Unterschiede aller 4 Behandlungsgruppen, so ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Berstungsdrucken von reiner Naht (Gruppe I) bzw. zusätzlicher Fibrinklebung (Gruppe II) auf der einen Seite und von den Gruppen III und IV (Kollagenvlies-Ummantelung mit bzw. ohne zusätzliche Fibrinklebung) auf der anderen Seite:
am 3., 5. und 7. p.o. Tag ($p \leq 0{,}01$) und am 9. p.o. Tag ($p \leq 0{,}02$). Besonders deutlich ist der Unterschied am 3. p.o. Tag, wo bei Applikation von zusätzlichem Kollagenvlies mit Fibrinkleber sogar 2,6fache Berstungsdrucke im Vergleich zu denen bei der reinen Naht zu sehen waren.

Auffällig auch der Unterschied der Rupturlokalisationen: Bei den Gruppen III und IV finden sich diese öfter als bei den Gruppen I und II auch distal.

Festzuhalten ist außerdem, daß reine Naht und Fibrinklebung sich an keinem postoperativen Tag signifikant unterscheiden.

BERSTUNGSDRUCKVERSUCH ($\tilde{x}$)

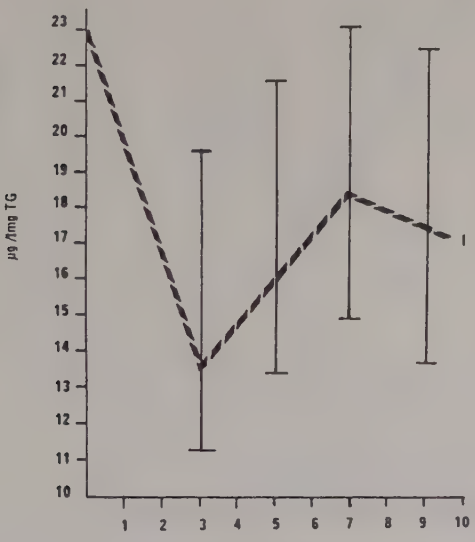


4.3. Hydroxyprolinbestimmung

Es wurde das Hydroxyprolin in µg pro 1 mg Trockengewicht (µg HP/mg TG) gemessen.

4.3.1. Alleinige Naht

Amm 3. p.o. Tag war ein deutlicher Abfall des Hydroxyprolinspiegels auf $\tilde{x}$ = 13,8 (d = 11,2 - 19,5) µg HP/mg TG zu beobachten. Am 5. und 7. p.o. Tag wurde mit $\tilde{x}$ = 15,5 (d = 13,3 - 21,4) bzw. $\tilde{x}$ = 18,5 (d = 14,8 - 23,1) µg dann ein kontinuierlicher Anstieg gemessen, worauf am 9. p.o. Tag mit $\tilde{x}$ = 17,6 (d = 13,9 - 22,7) µg HP/mg TG wieder ein geringer Abfall folgte.



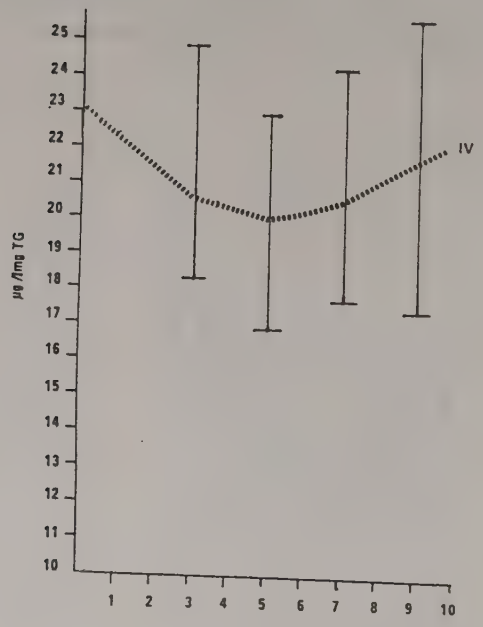
p.o. Tag

Hydroxyprolinbestimmung Gruppe I

Für die Gruppe IV fanden sich noch höhere Werte, und zwar

am 3. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 20,8 (d = 18,1 - 24,6) µg HP/mg TG
am 5. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 20,1 (d = 16,9 - 22,8) µg HP/mg TG
am 7. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 20,7 (d = 17,5 - 23,9) µg HP/mg TG
am 9. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 21,8 (d = 17,3 - 25,5) µg HP/mg TG

teilweise über den physiologischen Ausgangswert hinausgehende Werte.



Hydroxyprolinbestimmung Gruppe IV

4.3.4. Vergleich der Gruppen I bis IV

Am 3. p.o. Tag konnte bei den lediglich genähten Anastomosen ein signifikanter Abfall ($p \leq 0,01$) gegenüber dem Ausgangswert beobachtet werden.

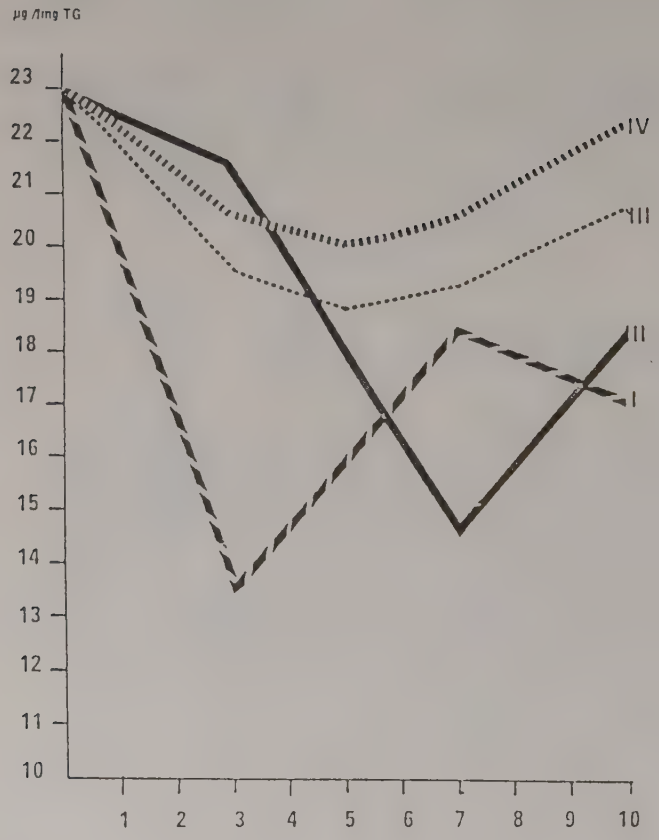
Aber auch am 5. ($p \leq 0,02$) und 9. p.o. Tag ($p \leq 0,05$) dieser Gruppe I und am 5. ($p \leq 0,05$) und 7. ($p \leq 0,01$) p.o. Tag der Gruppe II waren noch ein signifikanter Hydroxyprolinabfall zu verzeichnen.

An keinem postoperativen Tag fielen die Hydroxyprolinwerte der mit Kollagenvlies und/oder Fibrinkleber behandelten Gruppen III und IV unter den Ausgangswert. Sie unterscheiden sich am 3. p.o. Tag signifikant ($p \leq 0,05$) von der Gruppe I.

4.4. ^{125}Jod-Fibrinogen-Kinetik - Messung

Für diese Messung wurden nur die Gruppen II (Naht und ^{125}Jod-markiertes Fibrinklebersystem) und Gruppe IV (Naht mit Kollagenvlies-^{125}Jod-markiertes Fibrinklebersystem) untersucht. Als Ausgangswert galt jeweils der aus zwei Organ-Standard-Proben gemittelte Wert, gemessen in Impulsen pro Minute (Imp/min). Von den übrigen Organen (Leber, Milz, Nieren und Schilddrüse) konnte nur die Schilddrüse als wichtigstes Referenzorgan relevante Impulsraten aufweisen.

HYDROXYPROLINBESTIMMUNG Gruppen I bis IV



4.4.1. Radioaktiv-^{125}Jod-markierte Fibrinklebung (Gruppe II)

Bereits am 3. p.o. Tag konnten am anastomosierten Darmsegment nur noch $\tilde{x}$ = 8,65 (d = 7,63 - 10,69) %, am 5. p.o. Tag nur noch $\tilde{x}$ = 2,57 (d = 0,8 - 4,9) % der Impulse des Ausgangswertes erfaßt werden.

Am 7. p.o. Tag und am 9. p.o. Tag waren die Impulsraten $\tilde{x}$ = 0,21 (d = 0,09 - 0,27) % bzw. $\tilde{x}$ = 0,12 (d = 0,06 - 0,13) % der Ausgangswerte, womit vom fast völligen Verschwinden des radioaktiven Fibrinklebers von der Anastomose auszugehen war.

Die Schilddrüse konnte am 3. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 12,5 (d = 3,1 - 15,8) %, am 5. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 20,2 (d = 13,7 - 26,9) %, am 7. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 25,4 (d = 21,5 - 30,9) % und am 9. p.o. Tag $\tilde{x}$ = 28,3 (d = 19,5 - 32,7) % der Organ-Standard-Impulsrate aufweisen.

4.4.2. Kollagenvlies-Ummantelung mit radioaktiv-^{125}Jod-markierter Fibrinklebung (Gruppe IV)

Mit $\tilde{x}$ = 44,59 (d = 34,22 - 58,52) % des Ausgangswertes konnten am 3. p.o. Tag noch nahezu die Hälfte des aktiven Fibrinklebers nachgewiesen werden; am 5. p.o. Tag waren es immerhin noch $\tilde{x}$ = 24,17 (d = 12,56 - 37,82) %. Selbst am 7. p.o. Tag lagen die Impulsraten mit $\tilde{x}$ = 10,06 (d = 5,16 - 20,07) % noch über den Werten der Gruppe II am 3. p.o. Tag. Erst am 9. p.o. Tag sah man den Abfall auf $\tilde{x}$ = 3,7 %, allerdings mit einer Streuung bis 16,44 % (d = 1,6 - 16,44).

Die Schilddrüsen-Impulsraten lagen am 3. p.o. Tag bei ca.

2 % (d = 0,5 - 4,1) und an den folgenden Tagen relativ konstant um $\tilde{x}$ = 4 bis 5 %.

4.4.3. Vergleich der Gruppen II und IV

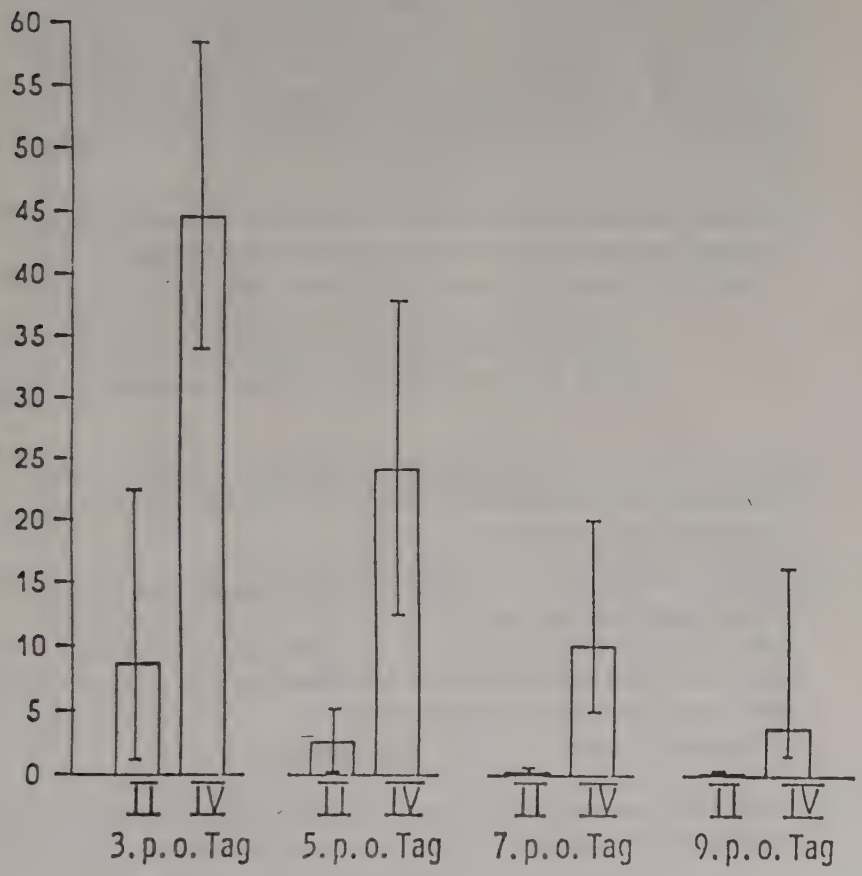
Bei der Gruppe II waren bereits am 3. p.o. Tag nur noch weniger als 10 % bezogen auf die Ausgangswerte nachweisbar. Dieser abrupte Abfall war signifikant stärker ($p \leq 0,01$) als bei der Gruppe IV, in der am 7. p.o. Tag noch mehr Impulse/min als bei der Gruppe II am 3. p.o. Tag gemessen wurden.

Dennoch zeigt auch die Gruppe IV einen relativ schnellen, kontinuierlichen Impulsraten-Abfall innerhalb von 7 Tagen postoperationem auf 10 % bezogen auf den Ausgangswert.

Die hier durchgeführte ^{125}Jod-Fibrinogen-Kinetik - Messung zeigt, daß die Verbindung des radio-^{125}Jod-markierten Fibrinklebers zerstört und das ^{125}Jod in die Schilddrüse abtransportiert wird: Die radioaktive Verbindung wird aufgebrochen, da ^{125}Jod in der Schilddrüse erscheinen kann. Eine große Menge von ^{125}Jod in der Schilddrüse wie bei Gruppe II beweist einen schnellen, eine geringe Menge wie bei Gruppe IV einen langsameren Abbau an der Anastomose, was den Befunden der anderen experimentellen Parameter entspricht.

Die Verbleibensdauer des Fibrinklebers insbesondere an den ersten - und für die Festigkeit der Anastomose entscheidenden - 5 postoperativen Tagen ist nur dann in relevantem Maße gewährleistet, wenn er mit der Kollagenvlies-Ummantelung kombiniert ist. Bei alleiniger Fibrinkleber-Applikation ist von einem schnellen Abtransport auszugehen.

^{125} J O D - K I N E T I K



4.5. Mikroangiographie

Die Mikroangiogramme vermittelten - obwohl nicht immer ganz einheitlich realisiert - den Eindruck, daß zwischen den nur genähten (Gruppe I) und den fibringeklebten (Gruppe II) einerseits und zwischen den mit Kollagenvlies und (Gruppe IV)/oder (Gruppe III) Fibrinkleberkombination zusätzlich behandelten Anastomosen andererseits keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich der Revaskularisation der Anastomose bestanden.

Es sind deshalb jeweils die Gruppen I und II sowie die Gruppen III und IV jeweils gemeinsam zu betrachten.

4.5.1. Alleinige Naht und zusätzliche Fibrinklebung

Am 3. p.o. Tag findet sich eine avaskuläre, optisch leere, homogene Zone, angrenzende Gefäße enden plump und scheinen dort ektatisch verdickt zu sein.

Am 5. p.o. Tag sieht man erste Einsprossungen, aber noch keine Gefäß-Kontinuität.

Am 7. p.o. Tag kann man erste vereinzelte, feine, überbrückende Gefäße beobachten, erst am

9. p.o. Tag teilweise dicke Gefäßknäuel.

Zuweilen täuschen Gefüße von Adhäsionen eine Anastomosen-Vaskularisation vor.

4.5.2. Kollagenvlies-Ummantelung ohne bzw. mit Fibrinklebung

Hier sind in einzelnen, nicht jedoch in der Mehrzahl der Mikroangiogramme deutlich, wenn auch haarfeine, die Anastomose durchsprossende Gefäße zu sehen, die am 5. p.o. Tag ektatisch erscheinen. Zuweilen kann man (wie bei der Gruppe III am 5. p.o. Tag) erkennen, wie das Kollagenvlies zirkulär, avaskulär liegt: lumenwärts die teilweise schon ektatischen Gefäßneubildungen und serosawärts Gefäße von Verwachsungen. Am 7. p.o. Tag werden knäuelartige Gefäßhaufen sichtbar, die noch ektatischer und plumper erscheinen als am 9. p.o. Tag der Gruppen I und II. Am 9. p.o. Tag sieht man dann auch schon eher gestreckte, weniger knäuelartige Gefäße, die nun die Anastomose dick und offensichtlich in größerer Zahl durchziehen.

4.5.3. Vergleich der Behandlungsgruppen I bis IV

Die im wesentlichen in der Submucosa beginnende Revaskularisation der Anastomose kommt in unseren Mikroangiographie-Präparaten in den Gruppen I und II erst am 9. p.o. Tag zum Durchbau der Anastomose. Dies scheint bei den Gruppen III und IV etwas eher, nämlich am 7. p.o. Tag, der Fall zu sein, wenn auch dies nicht einheitlich zu beobachten ist. Sicherlich ist eine definitive Beurteilung unserer Mikroangiogramme nur in selteneren Fällen möglich: Die multiplen, vor allem distal der Anastomosen adhärenten Verwachsungen und die eher rasche, serosa- und lumenwärtige Epithelialisierung der Kollagenvliese bergen Beurteilungsfehler in sich, weil sie eine Revaskularisation der Anastomose vortäuschen können.

Abb. 25
Mikroangiographie 3. p.o. Tag: FIBRINKLEBUNG:
avaskuläre Anastomose.
Gesamtvergrößerung: 20fach.

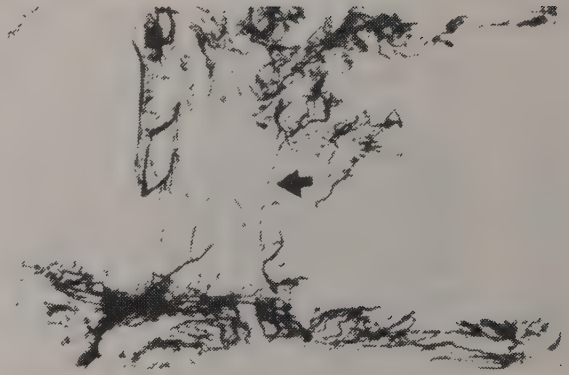


Abb. 27
Mikroangiographie 3. p.o. Tag: KOLLAGENVLIES-UMHÜLLUNG
Einsprossung einzelner feiner Kapillaren.
Gesamtvergrößerung: 20fach

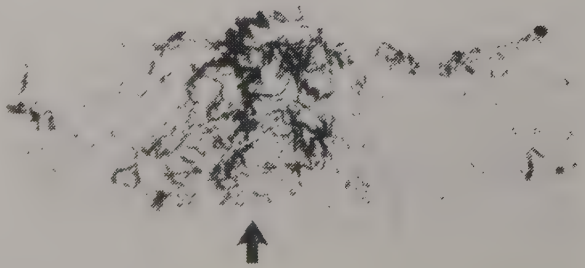


Abb. 26
Mikroangiographie 9. p.o. Tag: FIBRINKLEBUNG
komplette Revaskularisierung der Anastomose.
Gesamtvergrößerung: 20fach

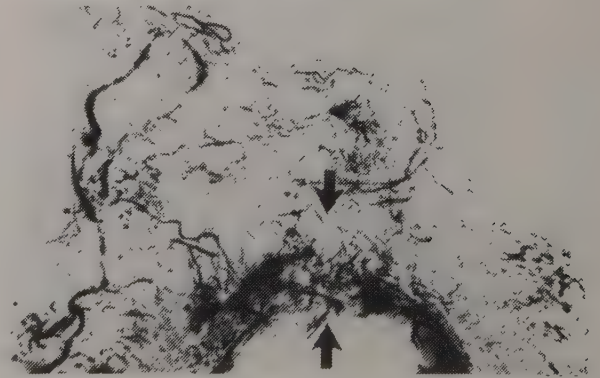


Abb. 28
Mikroangiographie 9. p.o. Tag: KOLLAGENVLIES-UMHÜLLUNG
komplette Revaskularisierung.
Gesamtvergrößerung: 20fach

Jedoch hat man den Eindruck, daß bei den Gruppen III und IV die Revaskularisation mengenmäßig umfangreicher ist. Bedeutung ist der Tatsache beizumessen, daß bei manchen Präparaten der Gruppen III und IV bereits am 3. p.o. Tag die ersten Gefäße die Anastomose durchziehen. Dies wurde bei den Gruppen I und II nicht gesehen.

4.6. Histologie

Die histologische Diagnostik erbrachte - ähnlich wie bei den übrigen experimentellen Parametern - eine hinsichtlich der Ergebnisse eindeutige Zweiteilung der Behandlungsformen in die Gruppen I und II einerseits und die Gruppen III und IV andererseits.

Bei den Gruppen I und II konnte man sehen, daß die Anastomosen nicht immer auf Stoß adaptiert und gelegentlich übereinander verrutscht waren.

4.6.1. Alleinige Naht und zusätzliche Fibrinklebung (Gruppen I und II)

Hier erkennt man geringe granulozytäre und monozytäre Infiltrationen. Die Fibroblasten-Aktivität ist deutlich, die Vaskularisation uneinheitlich zu beurteilen. Hingegen sind Fremdkörperriesenzellen (abgesehen von gelegentlichen solcher bei fibringeklebten Anastomosen am 7. und 9. p.o. Tag) sehr gering bis überhaupt nicht vorhanden. Die Kollagenbildung wurde bemerkenswerterweise mehrheitlich beim späteren Tötungszeitpunkt (7. und 9. p.o. Tag) als deutlich bis fortgeschritten vernarbt graduiert.

4.6.2. Kollagenvlies-Ummantelung ohne bzw. mit Fibrinklebung (Gruppen III und IV)

Es bietet sich folgendes Bild: Während am 3. p.o. Tag das Schwergewicht auf der granulozytären und monozytären Infiltration liegt, gesellt sich ab dem 5. p.o. Tag zunehmend eine höher- bis höchstgradige, überschießende Riesenzellenreaktion hinzu. Es findet eine zunehmende Kollagenvlies-Demarkation mit ödematös aufgequollenem Randwall und eine Abszeßbildung bei im Verlauf breiter werdenden Nahtdehiszenzen (sie erleichtern das Eindringen pathogener Keime vom Darmlumen her) statt. Dabei scheint die Abszeßmembran selbst durch starke bindegewebige Vermehrung an dem am 9. p.o. Tag gesehenen, eher breitnarbigen Verschluß der Anastomose beteiligt zu sein.

Der initialen granulozytären Infiltration des Anastomosenbereiches folgt - teilweise sogar eitrig - die des Kollagenvlieses selbst, worauf das Kollagenvlies entweder ins Darmlumen abgestoßen oder organisiert und tendenziell abgebaut wird (der Endpunkt dieser Entwicklung ist am 9. p.o. Tag noch nicht sichtbar).

Bei einigen Präparaten hat man den Eindruck, daß die Kollagenvlies-Ummantelung mehr noch als die Kollagenneubildung die Fibroblastenaktivität erhöht.

In einigen Fällen ist am 3. p.o. Tag bereits eine beginnende Vaskularisation sichtbar.

4.6.3. Vergleich der Behandlungsgruppen I bis IV

Die histologische Diagnostik läßt erkennen, daß das aldehyd-denaturierte Kollagenvlies als Fremdkörper fungiert und deshalb zwar mehr Nahtdehiszenzen verursacht als die alleinige Naht oder zusätzlicher Fibrinkleber, daß aber dies durch stärkere Fibroblastenaktivität und Vaskularisation, insbesondere jedoch durch die überschießende Narbenbildung kompensiert wird.

Die erhöhte Festigkeit der Kollagenvlies-ummantelten Anastomosen ist wesentlich hierauf zurückzuführen. Dies geht jedoch zu Lasten der Gewebeverträglichkeit und im Gefolge davon (durch Stenosierungen) auch zu Lasten der physiologischen Darmfunktion.

Abb. 29
Histologie 3. p.o. Tag: FIBRINKLEBUNG
geringe Entzündungsreaktion, Anastomose gut adaptiert. Gesamtvergrößerung: 35fach.

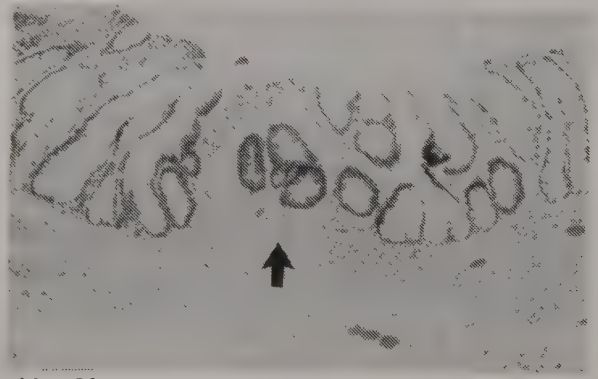


Abb. 30
Histologie 9. p.o. Tag: FIBRINKLEBUNG
geringe Entzündungsreaktion und Bindegewebsneubildung. GesamtvergrößerunG: 35fach.

Abb. 31
Histologie 3. p.o. Tag: KOLLAGENVLIES-UMHÜLLUNG
starke granulozytäre Infiltration, beginnende Demarkierung des Vlieses. Gesamtvergrößerung: 35fach

Abb. 32
Histologie 9. p.o. Tag: KOLLAGENVLIES-UMHÜLLUNG
Nahtdehiszenz, massenhaft Riesenzellen; starke Bindegewebsneubildung; komplette Demarkation des Vlieses. Gesamtvergrößerung: 35fach

5. DISKUSSION

Die Fragestellung dieser tierexperimentellen Studie war, ob eine zusätzliche Applikation von Fibrinkleber und/oder Kollagenvlies-Ummantelung die Festigkeit der Anastomosen erhöhen und damit Insuffizienzen vermindern kann.

Zur Beantwortung wurden am Rattenmodell auf Stoß genähte Einzel-Knopf-Kolonanastomosen im rekto-sigmoidalen Bereich angelegt, durch Kollagenvlies-Ummantelung mit oder ohne Fibrinkleber bzw. durch zusätzlichen Fibrinkleber allein gesichert und am 3., 5., 7. und 9. p.o. Tag hinsichtlich Festigkeit, Kollagengehalt, Verbleibensdauer des Fibrinklebers, Gewebereaktion und Revaskularisation untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, daß eine zusätzlich zur Naht applizierte Fibrinklebung hinsichtlich aller untersuchten Parameter keine Vorteile gegenüber der alleinigen Naht bringt.

Als Ursache dafür muß angenommen werden, daß - wie VON BARY (1980) belegen konnte - bei der Heilung der Kolonanastomose ohnehin die Fibrinbildung über die Fibrinolyse überwiegt, und damit von einer Fibrinolyse-bedingten Insuffizienz-Neigung nicht ausgegangen werden kann (8).

Dies steht im Widerspruch zu den Studien, die gerade die angenommene verstärkte Fibrinolyse als Argument für die Fibrinkleber-Applikation zugrundelegen (4, 69, 70, 76). Schließlich muß auch die Frage der Verbleibensdauer des Fibrinklebers an der Anastomose, die - gemessen an der ^{125}Jod-Fibrinogen-Kinetik - als kürzer als in der Literatur beschrieben gesehen wurde, weiter diskutiert werden.

Dagegen, allgemein anerkannt, steht seit CRONIN (1968) und HAWLEY (1970) fest, daß insbesondere bei distalen Kolonanastomosen die gesteigerte Kollagenolyse als Ursache der Insuffizienz angesehen werden könnte. Der parallel ver-

laufende, drastische Abfall des Berstungsdruckes wie des Kollagengehaltes an der Anastomose konnte nicht zuletzt von uns hinreichend gesichert werden. Die nach Auflösung des alten einsetzende schnelle Bildung neuen Kollagens (18) könnte eine Erklärung dafür sein, daß die Festigkeit bereits am 7. p.o. Tag wieder - im Gegensatz zum Kollagengehalt - die physiologischen Ausgangswerte des unbehandelten Dickdarms erreicht. Aber auch die zu diesem Tötungszeitpunkt beobachteten serosaseitigen Verwachsungen, die durch die Wundsetzung provoziert wurden und teilweise Nahtdehiszenzen abdeckten, wirken Insuffizienzen entgegen.

Im Zentrum des Interesses steht die Verhinderung bzw. Eindämmung der Kollagenolyse insbesondere um den 3. p.o. Tag herum. Neben der Hemmung der Kollagenase durch EDTA (7, 9), die klinisch derzeit nicht praktikabel erscheint, schien die tierexperimentelle Erprobung des - alternativ gesehen - reichlichen Substratangebotes in Form des mit Aldehyd denaturierten Kollagenvlieses naheliegend.

Die Ergebnisse hiermit sind unterschiedlich zu bewerten. Dabei spielte es keine Rolle, ob das Kollagenvlies mit Fibrinkleber kombiniert wurde oder nicht: Auf der einen Seite war die Festigkeit - besonders am 3. und 5. p.o. Tag - bei nur relativ geringem Abfall des Hydroxyprolinspiegels (bezogen auf den Ausgangswert) bedeutend größer als bei alleiniger Naht. Auch die Revaskularisation scheint etwas schneller in Gang zu kommen, wobei einschränkend bemerkt werden muß, daß mikroangiographisch dargestellte Gefäße wegen der hier bei der Kollagenvlies-Ummantelung sehr schnell einsetzenden Verwachsungen möglicherweise diesen und nicht der Anastomose zuzuordnen sind.

Auf der anderen Seite zeigten sich bei der Kollagenvlies-Ummantelung (ungeachtet des zusätzlichen Fibrinklebers) histologisch stets sehr starke Fremdkörperreaktionen, die ihrerseits mit oft weiträumigen Nahtdehiszenzen verbunden waren. Diese wurden durch das serosaseitig gut haftende und

schnell beidseitig epithelialisierte Kollagenvlies zusammengehalten und durch die durch den Fremdkörperreiz hervorgerufene überschießende Narbenbildung kompensiert. Häufig waren Stenosierungen an der Anastomose mit konsekutiver Dilatation des proximalen Darmsegments bis hin zum mechanischen Ileus durch Obstruktion bei maximalem Kotstau die Folge. Ebenso führten die Adhäsionen oftmals zum Okklusionsileus.

Eine Protektion des Anastomosengewebes gegen die Histotoxizität des Kollagenvlieses durch den zusätzlichen Fibrinkleber konnte - trotz dessen hierbei nachgewiesenermaßen längeren Verbleibens - nicht beobachtet werden.

Es kann aus den Ergebnissen gefolgert werden, daß die signifikante Festigkeitszunahme bei Kollagenvlies-Ummantelung in erster Linie auf die durch den Fremdkörperreiz provozierten, überschießenden Narbenbildungen und frühzeitig einsetzenden Verwachsungen zurückzuführen sind. Diese Festigkeitszunahme geht zu Lasten der physiologischen Wundreparation und regelrechten Darmfunktion.

Dagegen scheint das Prinzip der Drosselung der erhöhten Kollagenaseaktivität durch ihre Bindung mittels Kollagenvlies-Ummantelung gerade im Hinblick auf die klinische Anwendung, die aufgrund der vorliegenden Ergebnisse derzeit kontraindiziert ist, relevant zu sein. Auch beim nativen Kollagenvlies ist die Gefahr von Stenosierungen nicht ganz auszuschließen, da auch hierbei histologisch Riesenzellen diagnostiziert wurden (39).

6. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde tierexperimentell untersucht, ob die durch Fibrinklebung und/oder Kollagenvlies-ummantelte, mit Einzelknopfnähten auf Stoß genähte Kolonanastomose im rekto-sigmoidalen Bereich bei 272 männlichen Sprague-Dawley-Ratten eine zusätzliche Sicherung gegen Insuffizienzen bedeutet. Als Untersuchungsparameter dienten Messungen des Berstungsdrucks, des Hydroxyprolingehaltes und der Radio^{125}Jod-Fibrinogen-Impulsrate sowie die mikroangiographische und histologische Beurteilung im Anastomosenbereich.

Dabei lassen sich hinsichtlich der Fragestellungen (vgl. Kap. 3) folgende Ergebnisse formulieren:

1. Die Kollagenvlies-Ummantelung mit oder ohne Fibrinklebung konnte eine hochsignifikante Festigkeitszunahme sowohl gegenüber nur genähten als auch zusätzlich fibringeklebten Anastomosen aufweisen. Die zusätzlich fibringeklebten unterschieden sich nicht von den nur genähten Anastomosen.

2. Bei der Kollagenvlies-Ummantelung wurden eine frühere Vaskularisierung sowie ein geringerer Kollagenabfall postoperativ an der Anastomose beobachtet. Zugleich aber wurde die physiologische Wundreparation durch überschießende Narbenbildung bei exzessiver Fremdkörperreaktion gestört.

   Zusätzliche Fibrinkleber-Applikation und alleinige Naht unterscheiden sich weder hinsichtlich Kollagengehalt, Vaskularisierung noch histologischer Reaktion.

3. Die Verweildauer des Fibrinklebers besteht in der vorliegenden Studie nur in größerem Maße bei der Kombination mit Kollagenvlies. Dieses Ergebnis muß kritisch bewertet werden, weil bislang keine Kenntnisse über

die Applikation des Human-Fibrinogens im Rattenexperiment vorliegen.

4. Die klinische Anwendung des aldehydvernetzten Kollagenvlieses ist derzeit kontraindiziert.

   Hinsichtlich der weiteren Forschung läßt sich denken, daß tierexperimentell weniger denaturierte und dennoch auch bei Durchfeuchtung haltbare Kollagenvliese gefunden werden, die neben dem Vorteil der Kollagenase-Bindung auch eine physiologische Wundheilung und damit Darmfunktion postoperationem gewährleisten.

   Dabei könnte auch einer lokalen Applikation von Proteinasehemmern in möglichst hochkonzentrierter, in ähnlich dem Fibrinkleber gelatinierter Form in Kombination mit einem modifizierten Kollagenvlies größere Bedeutung zukommen. Die zusätzliche Applikation von Fibrinkleber mit oder ohne Kollagenvlies scheint uns jedoch obsolet.

   Eine Kollagenvlies-Ummantelung mit längerer Verweildauer und größerer Histokompatibilität bleibt die Aufgabe zukünftiger kolonchirurgischer Forschung.

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALLGÖWER, M.:
Fortschritte der Technik in der Colonchirurgie
Langenbecks Arch. Chir. 334, 1973, 87 - 93

2. ANDERS, A.:
Die allogene Venenimplantation
Habilitationsschrift, FU Berlin, 1976

3. ANDERS, A., TH. BODEMANN, U. BAER, K.-J. BAUKNECHT, J.-U. LAWERENZ:
Eignen sich Fibrinklebung und Kollagenvlies zur zusätzlichen Nahtsicherung von Colonanastomosen?
Langenbecks Arch. Chir. Supplement 1981, 175 - 180

4. ASCHERL, R., A. STEMBERGER, I. WEICHENMEIER, M. SCHEERER, U. HALLMANN, C.-D. HEIDECKE, G. BLÜMEL:
Die Anwendung verschiedener Fibrinklebetechniken am Kolon der Ratte
in: KRONBERGER (Hrsg.): 3. Fibrinkleber-Symposion Graz 1981 Immuno GmbH, Heidelberg, 1981, 37 - 40

5. BAER, U.:
Die Heilung der Enteroanastomose im bestrahlten Rattenkolon in Abhängigkeit vom zeitlichen Abstand nach der Bestrahlung: Mechanische, mikroangiographische, biochemische und histologische Untersuchungen
Habilitationsschrift, FU Berlin, 1982

6. BARY, S. v.:
Zur Wundheilung am Dickdarm und ihrer Beeinflussung durch die gewebeständige Fibrinolyse und Kollagenolyse
Fortschr. Med. 96. Jg. Nr. 41, 2112

7. BARY, S. v.:
Neue Gesichtspunkte zur Nahtheilung bei Colon- und Rektumanastomosen - klinische und tierexperimentelle Untersuchungen
in: REIFFERSCHEID, M. und S. LANGER (Hrsg.):
Der Mastdarmkrebs: Schließmuskelerhaltende Therapieverfahren und ihre Indikationsgrenzen. Symposion Aachen 1979, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1980, 27 - 31

8. BARY, S. v.:
Fibrinstabilisierung und Wundheilung
in: ECKERT, P. und R. HÄRING (Hrsg.):
Wundheilung. 1. Saarbrücker Gespräch v. 11. u. 12. Jan. 1980, Bibliomed-Verlag Melsungen, 135 - 142

9. BARY, S. v., H. KORTMANN, BILLING, A.:
Experimentelle Untersuchung der enzymatischen Aktivität des Dickdarms
Langenbecks Arch. Chir. Supplement 1978, 47 - 51

10. BARY, S. v., H. KORTMANN, H. MAIR, K. MESSMER, W. KÖPCKE:
Die gewebständige fibrinolytische Aktivität des Dickdarms und ihr Einfluß auf die Wundheilung
Langenbecks Arch. Chir. Supplement 1979, 145 - 149

11. BARY, S. v., H. KORTMANN, W. KÖPCKE:
Berstungsdrucke des enterotomierten Rattenkolons unter Proteinaseinhibition
Res. Exp. Med. 168, 1976, 123 - 128

12. BAUKNECHT, K.-J., U. BAER, R. HÄRING, J. KONRADT:
Tierexperimentelle Untersuchung über die Wundheilung im Coli - Endotoxin-Schock bei gleichzeitiger Faktor-XIII-Substitution
125. Tagung der Vereinigung Nordwestdeutscher Chirurgen Forum: Experimentelle Chirurgie, Kiel, 1980

13. BLÜMEL, G., W. ERHARDT, FRITSCHE, H.-M., S. HAAS, H. SCHOENEICH, A. STEMBERGER, I. WRIEDT-LÜBBE:
Biologische Gewebeklebung mit Gerinnungsfaktoren, Kollagenschwämmen und Fibrinolyseinhibitoren
Langenbecks Arch. Chir. Supplement 1979, 134 - 139

14. BRAUN, F., K. HENNING, J. HOLLE, W. KOVAC, K. RAUCHENWALD, H.-P. SPÄNGLER, U. URLESBERGER:
Erfahrungen mit einem biologischen Klebersystem (Fibrin) bei Versorgung von Nierenparenchymwunden
Zbl. Chir. 102, 1977, 1235 - 1246

15. BOHATYRTSCHUK, F.:
Die Fragen der Mikroröntgenographie
Fortschr. Röntgenstr. 65, 1942, 253

16. CHLUMSKY, V.:
Experimentelle Untersuchungen über die verschiedenen Methoden der Darmvereinigung
Bruns Beitr. Klin. Chir. 25, 1899, 539

17. CHVAPIL, M. und M. KRAJICEK:
Die Analyse einiger theoretischer Probleme bei der Verwendung von Erzeugnissen aus Kollagen in der Medizin
Langenbecks Arch. Chir. 318, 1967, 80 - 101

18. CRONIN, K., D. S. JACKSON, J. E. DUNPHEY:
Changing bursting strength an collagen content of the healing wound.
Surg. Gynec. Obstet. 126, 1968, 747 - 753

19. DAWSON, J. PRYSE-DAVIS:
The distribution of certain enzyme systems in the normal human gastrointestinal tract.
Gastroenterology 44, 1963, 745

20. DEBAS, H. T., an D. THOMSON:
A critical review of colectomy with anastomosis
Surgery Gynec. Obstet. 135, 1972, 747 - 752

21. DELANEY, P., D. LALOR:
The use of collagenase inhibitor in prevention of large bowel anastomotic dehiscence.
Brit. J. Surg. 61, 1974, 923

22. DELANEY, P., D. LALOR:
Enzyme inhibition in colorectal surgery.
Brit. J. Surg. 63, 1976, 23

23. FEY, R.:
Über die Erfassung des Bindegewebsgehaltes von Fleischwaren mit der Hydroxyprolinmethode.
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 164, 1977, 233 - 238

24. GARNER, A., A. W. HARGEAVES, N. C. KEDDIE:
Colonic anastomosis, a histopathological study in the rabbit.
Brit. J. 56, 1969, 673

25. GILMORE, O. J. A., R. D. ROSIN, G. EXARCHAKOS, H. ELLIS:
Colonic Anastomosis Healing: The effect of topical Povidone Jodine
Eur. Surg. Res. 10, 1978, 94 - 104

26. GOLIGHER, J. C., N. G. GRAHAM, F. T. DE DOMBAL:
Anastomosis dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid.
Brit. J. Surg. 57, 1970, 107

27. HÄRING, R., STUCKRAD, H. V., CH. LAMPRECHT, S. GROHME, S. DRESSLER:
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Durchführung enteraler Anastomosen mit Klebstoff.
Langenbecks Arch. Cir. 316, 1966, 527 - 577

28. HÄRING, R., DRESSLER, S., H. KOTLORZ:
Die Anwendung von Wundklebern im Gastrointestinaltrakt. Adhesives in Surgery.
Wien. Med. Akad., Wien 1968, 109

29. HÄRING, R., STUCKRAD, H. v., LAMPRECHT, CH., S. GROHME, S. DRESSLER:
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Durchführung enteraler Anastomosen mit Klebstoff.
Langenbecks Arch. Chir. 316, 1966, 572 - 577

30. HALSTED, W. S.:
Circula suture of the intestines. An experimental study.
Am. J. Med. Sci. 94, 1887, 436

31. HARPER, H. A., G. LÖFFLER, P. E. PETRIDES, L. WEISS:
Physiologische Chemie - eine Einführung in die medizinische Biochemie für Studierende der Medizin und Ärzte.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1975

32. HAWLEY, P. R.:
Infection - the cause of anastomotic breakdown: an experimental study.
Proc. roy. Soc. Med., 63, Aug. 1970, 752

33. HAWLEY, P. R.:
Causes and prevention of colonic anastomotic breakdown.
Dis. Colon Rectum 16, 1973, 272

34. HAWLEY, P. R., W. PAGEFAULK:
A circulatory collagenase inhibitor.
Brit. J. Surg. 57, 1970, 36

35. HAWLEY, P. R., T. K. HUNT, J. E. DUNPHY:
The aetiology of colonic anastomotic leaks.
Proc. R. Soc. Med. 63 (Suppl.), 1970, 28

36. HAWLEY, P. R., W. P. FAULK, D. K. HUNT, J. E. DUNPHY:
Collagenase activity in the gastrointestinal tract.
Brit. J. Surg. 57, 1970, 896

37. HEIDECKE, C.-D., HEBELER, W., G. SPILKER, A. STEMBERGER, I. WRIEDT-LÜBBE, SCHMELLER, M. L., R. BLASINI, G. BLÜMEL:
Experimentelle Untersuchungen von Enterotomien des Rattenileums nach Applikation von physiologischen Plasmafraktionen.
Zbl. Chir. 105, 1980, 506 - 593

38. HERRMANN, J. B., WOODWARD, S. C., E. J. PULASKI:
Healing of colonic anastomosis in the rat.
Surg. Gynec. Obstet. 119, 1964, 269

39. HÖLLERL, G.:
Versorgung der verletzten Milz mittels Fibrinklebung, Infrarot-Kontakt-Koagulation und Laserkoagulation - vergleichende tierexperimentelle Studie.
Acta Chirurgica Austriaca, Supplement 37, 1981

40. IRVIN, T. T.:
Collagen metabolism in infected colonic anastomosis.
Brit. J. Surg. 62, 1975, 659

41. IRVIN, T. T., J. C. GOLIGHER:
Aetiology of disruption of intestinal anastomosis.
Brit. J. Surg. 60/6, 1973, 461 - 464

42. IRVIN, T. T., T. K. HUNT:
Pathogenesis and prevention of disruption of colonic anastomosis in traumatized rats.
Brit. J. Surg. 61, 1974, 437

43. JOHN, S.:
Die Enteroanastomose - eine mikroangiographische Studie zur Anastomosenheilung.
Habilitationsschrift, FU Berlin, 1975

44. JIBORN, H., J. AHONEN, E. LINDELL, B. ZEDERFELDT:
Cardiac output distribution after left colon anastomosis in the rat.
Eur. Surg. Res. 11 (2), 1979, 134 - 144

45. JIBORN, H., J. AHONEN, B. ZEDERFELDT:
Healing of Experimental Colonic Anastomosis - the effect of Suture Technic on Collagen Concentration in the Colonic Wall.
Am. J. Surg. 139, 1978, 333 - 340

46. JIBORN, H., J. AHONEN, ZEDERFELDT, B.:
Healing of experimental colonic anastomosis. III. collagen metabolism in the colon after left colon resection.
Am. J. Surg. 139, 1980, 398 - 405

47. KAMPSHOFF, E.:
Zur Kolonanastomosentechnik.
Aktuelle Probl. Chir. Orthop. 10, 1979, 34 - 37

48. KIRKEGAARD, P., A. B. CHIRSTENSEN, J. IBSEN, V. HEDEGUS, J. CHRISTIANSEN:
Experimental nonsuture colonic anastomoses.
Am. J. Surg. 139, 1980, 233 - 236

49. LANGER, S., R. HABERLAND:
Der Heilungsverlauf der Dickdarmanastomose in Abhängigkeit vom Ausmaß der Gefäßskelettierung.
Langenbecks Arch. Chir. Supplement 1976, 247 - 252

50. LEWIS, M. J., W. F. CAPS, D. A. GAZZANGIA:
Primary resection of the colon for perforating and obstruction lesions. A new technic for end to end anastomosis.
Dis. Colon Rectum 10, 1967, 352

51. MATRAS, H., H. P. DINGES, H. LASSMANN, B. MAMMOLI:
Zur nahtlosen interfaszikulären Nerventransplantation im Tierexperiment.
Wien. med. Wschr. 122, 1972, 517 - 523

52. MORGENSTERN, L., T. YAMAKAWA, N. BEN-SHOSHAN:
Anastomotic leakage after low colonic anastomosis.
Am. J. Surg. 123, 1972, 104

53. NOETHINGER, F.:
Morphologische und biochemische Untersuchungen mit verschiedenen Nahtmaterialien an der Kolonanastomose der Ratte.
Helv. Chir. Acta 46 (1-2), 213 - 218

54. NOETHINGER, F., W. J. ZIEGLER, J. FINGER, R. KAUFMANN:
Nathmaterial in der Darmanastomose.
Helv. Chir. Acta Supplementum, 1980

55. PUSTELNIK, CH.:
Gammaspektrometrische und historadiographische Untersuchungen über die Umverteilung und Perfusion von kolloidalem Thorium Dioxid in Rattenlebern.
Inaugural-Dissertation FU Berlin, 1982

56. RAUCHENWALD, K., H. URLESBERGER, K. HENNING, F. BRAUN, H.-P. SPÄNGLER, J. HOLLE:
Anwendung eines Fibrinklebers bei Operationen am Nierenparenchym.
Akt. Urologie, 1976, 209 - 215

57. REICHEL, K.:
Die einreihige Enteroanastomose. Experimentelle und klinische Ergebnisse.
Langenbecks. Arch. Chir. 322, Kongreßbericht 1972

58. REICHEL, K., R. NAGEL:
Erfahrungen und Komplikationen bei der zwei- und einreihigen Enteroanastomose.
Langenbecks Arch. Chir. 323, 1969, 362 - 373

59. RUPP, G., A. STEMBERGER:
Versorgung frischer Achillessehnenrupturen mit resorbierbarem Nahtmaterial und Fibrinkleber.
Med. Welt 29, 1978, 796

60. SCHEELE, J.:
Klinische Erfahrungen mit der Fibrinklebung an parenchymatösen Oberbauchorganen.
Akt. Chir. 17, 1982, 153 - 161

61. SCHEELE, J., H.-J. PESCH, E. MÜHE, B. HERZOG:
Fibrin glue protection of digestive anastomoses: Experimental results and clinical experiences.
Langenbecks Arch. Chir. 345, 1977, 623

62. SCHEELE, J., B. HERZOG, E. MÜHE:
Anastomosenabsicherung am Verdauungstrakt mit Fibrinkleber. Nahttechnische Grundlagen, experimentelle Befunde, klinische Erfahrungen.
Zbl. Chir. 103, 1978, 1325 - 1336

63. SCHEELE, J., MÜHE, E., F. WOPFNER:
Fibrinklebung. Eine neue Behandlungsmethode beim persistierenden und rezidivierenden Spontanpneumothorax.
Chirurg 49, 1978, 236 - 243

64. SCHEELE, J., B. HUSEMANN, H.-J. PESCH:
Kolonanastomose im Tierexperiment - mechanische und morphologische Befunde.
Z. Exp. Chir. 11, 1978, 110 - 120

65. SCHEELE, J., R. PANIS, H.-J. PESCH, B. SCHEELE:
Raschere Wundheilung durch Fibrinklebung.
Münch. Med. Wschr. 121, 1979, 743

66. SCHROCK, T. R., DEVENEY, C. W., J. E. DUNPHY:
Factors contributing to leakage of colonic anastomoses.
Ann. Surg. 177, 1973, 513

67. SILL, V.:
Pathologie des septischen Schocks bei Peritonitis.
Chirurg 47, 1976, 305 - 307

68. SPILKER, G., G. BLÜMEL, W. HEBELER, C. D. HEIDECKE:
Experimentelle Untersuchungen der Belastbarkeit von Enterotomien nach Verschluß durch Naht und Fibrinkleber.
Vortrag, gehalten auf der 95. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, München 1978

69. SPÄNGLER, H.-P.:
Gewebeklebung und lokale Blutstillung mit Fibrinogen, Thrombin und Blutgerinnungsfaktor XIII: Experimentelle Untersuchungen und klinische Erfahrungen.
Wien. Klin. Wschr. 88, Supplem. 49, 1976, 1 - 18

70. SPÄNGLER, H.-P., F. BRAUN, J. HOLLE, E. MORITZ, E. WOLNER:
Die lokale Anwendung von Fibrinogen und Kollagen zur Blutstillung in der Herzchirurgie.
Wien. med. Wschr. 7, 1976, 86 - 89

71. STEMBERGER, A., H.-M. FRITSCHE, P. PRIMS, G. BLÜMEL:
Fibrinogenkonzentrate und Kollagenschwämme zur Gewebeklebung.
Med. Welt 29, 1978, 720 - 724

72. STAINDL, O.:
Die Gewebeklebung mit hochkonzentriertem, humanem Fibrinogen am Beispiel der freien, autologen Hauttransplantation.
Arch. Oto.-Rhino-Laryng. 217, 1977, 219 - 223

73. STELZNER, F.:
Operationstechnisch bedingte Mißerfolge bei der Behandlung des Kolon- und Rektumkarzinoms.
Zbl. Chir. 102, 1977, 1559

74. TERA, C., C. ABERG:
Tissue holding power to a single suture in different parts of the alimentary tract.
Acta. Chir. Scand. 142, 1976, 343

75. THIEDE, A., JOSTRANDT, H. TROIDL, H. L. POSER, U. BERTZ, H. HAMELMANN:
Der Wert der zirkulären Colon- und Rektumanastomose (EEA). Eine prospektive Studie an 91 Patienten.
Chirurg, 52. Jg., Heft 1, 1981, 30 - 35

76. TSCHELIESSNIGG, K. H., W. HERMANN, D. DACAR, W. STENZL, G. HÖLLERL:
Fibrinklebung. Eine Übersicht über Entwicklung, Technik und derzeitigen Stand.
in KRONBERGER (Hrsg.): Anwendung des Fibrinklebers in operativen Fächern. 2. Fibrinkleber-Symposion Graz 1981, Immuno GmbH, Heidelberg 1981

77. WERNER, D., D. FLECKENSTEIN:
Speziell gefertigtes Kollagenvlies der Fa. B. BRAUN MELSUNGEN AG
Persönliche Mitteilung 1981

78. WOESSNER, J. G.:
The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this aminoacid.
Arch. Biochem. Biophys. 92, 1961, 440 - 447

79. YOUNG, J. Z., P. B. MEDAWAR:
Fibrin suture of peripheral nerves.
Lancet 2, 1940, 126 - 128

DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr. med. A. Anders möchte ich für die Überlassung des Themas sowie für seine ständige, engagierte Förderung meiner Arbeit sehr herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Priv. Doz. Dr. med. U. Baer für seine zahlreichen Hilfestellungen bei der Durchführung der Experimente.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. H. Gögler verdanke ich wertvolle Hinweise zur textlichen und strukturellen Gestaltung der Arbeit.

Herrn Dr. med. J.-U. Lawerenz sei gedankt für die freundliche Unterstützung bei der Befundung der histologischen Präparate.

Den Mitarbeitern des Chirurgischen Forschungslabors, insbesondere Frau Pannhorst und Frau Boehling, sowie des Nuklearmedizinischen Forschungslabors, hier besonders Herrn Franke, danke ich für ihre bereitwillige Mithilfe bei der Bereitstellung der Materialien und Geräte sowie bei der Tierhaltung.

Herrn Dr. rer. nat. W. Hopfenmüller danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Experimente.

Des weiteren bedanke ich mich bei den Mitarbeitern der Glasbläserei sowie der graphischen Abteilung und der Fotoabteilung des Klinikums Steglitz für ihre Hilfe bei der Durchführung der Experimente hinsichtlich der fototechnischen und graphischen Gestaltung der Arbeit.

Frau Gabriele Monath sei für die Reinschrift dieser Arbeit gedankt.

LEBENSLAUF

1951	am 20. Juli geboren in Stuttgart als Sohn des Graphikers und Kunstmalers Horst Bodemann und seiner Ehefrau Jutta Bodemann, geb. Schlüter
1958 - 1962	Besuch der Volksschule Stuttgart-Rotenberg und Korntal b. Stuttgart
1962 - 1966	Besuch des Gymnasiums Korntal
1966 - 1970	Stipendiat der Schule Schloß Salem
1968	Tod meines Vaters
1969	Studium der Musik in Siena/Italien als Stipendiat der North Carolina School of the Arts/USA
1970	Abitur an der Schule Schloß Salem
1970 - 1976	Studium der Psychologie und Philosophie an der Universität Hamburg und der FU Berlin
1976	Hauptdiplom in Psychologie an der FU Berlin, FB 12 Tod meiner Mutter
1976 - 1983	Studium der Humanmedizin an der FU Berlin
1978	Ärztliche Vorprüfung
1979	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1982	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1983	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
1984	am 17. Januar Erteilung der Approbation als Arzt durch den Senator für Gesundheit, Soziales und Familie, Berlin

Am 27.2.1984 Beginn der Tätigkeit als Assistenzarzt in der III. Inneren Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses (Chefarzt Prof. Dr. med. H. Hochrein) in Berlin-Wedding.

Berlin, im Februar 1985